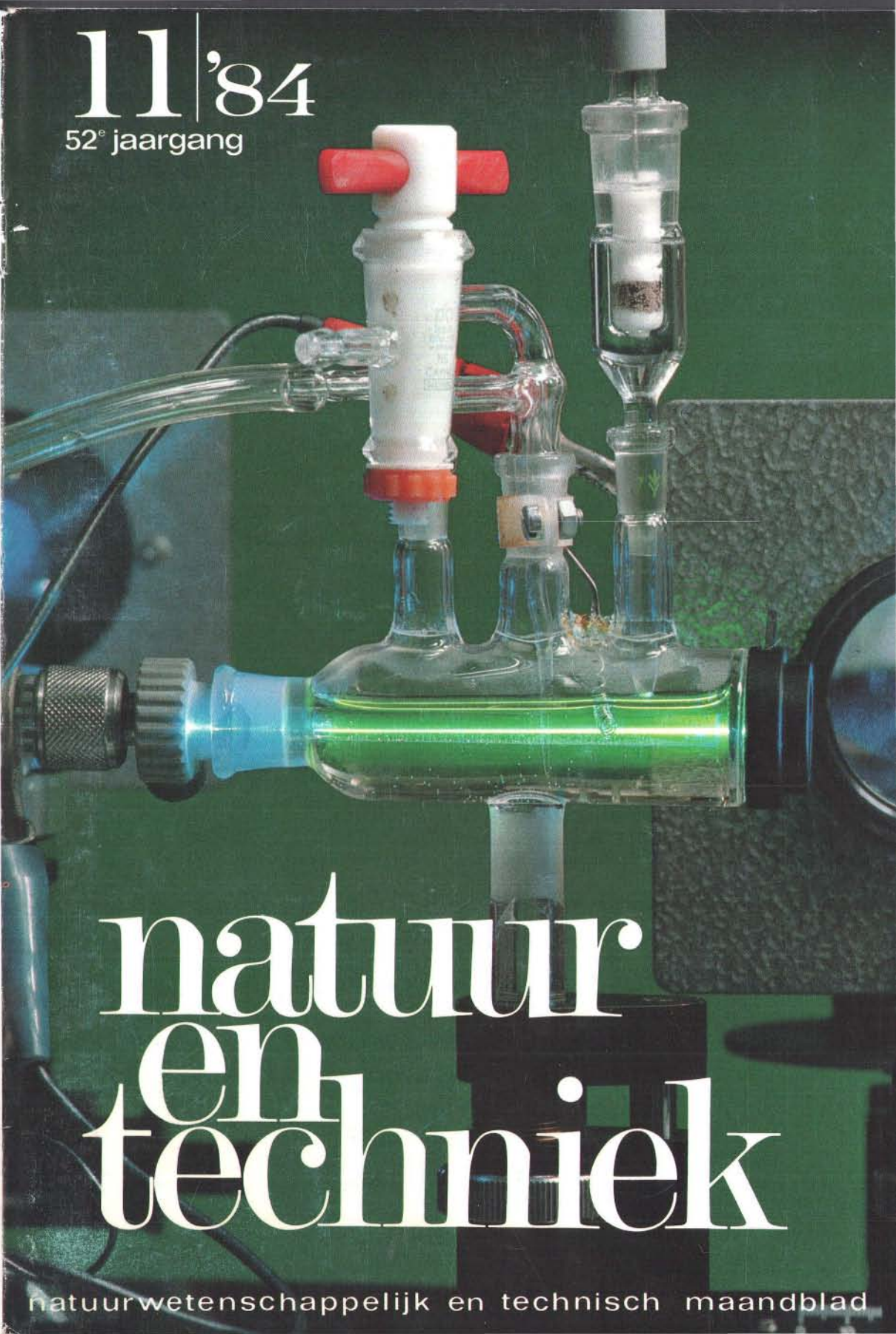




11'84

52^e jaargang

natuur en techniek

natuurwetenschappelijk en technisch maandblad

Bij de omslag

Met Raman-spectroscopie kan men de bouw van moleculen bepalen aan de hand van de verstrooiing van licht. Hiervoor gebruikt men veelal een laser, hier een argon-ionenlaser bij 514,5 nm. Door nu gebruik te maken van een metaaloppervlak kan men het Ramansignaal tien- of honderduizend maal versterken. Dit noemt men Surface-enhanced Raman scattering (SERS). Met deze apparatuur is men in staat om de invloed van straling op DNA na te gaan, waardoor verschuivingen in de basevolgorde ontstaan, die zich uiten in (vershoven) pieken in de spectra. Zie verder het artikel van G. den Boef over chemische analysemethoden op pag. 854 e.v.

(Foto: Karl Peters, Kernforschungsanlage Jülich).

NATUUR en TECHNIEK verschijnt maandelijks, uitgegeven door de Centrale Uitgeverij en Adviesbureau B.V. te Maastricht. Redactie en Administratie zijn te bereiken op:
Voor Nederland: Postbus 415, 6200 AK Maastricht. Telefoon: 043-54044*.
Voor België: Tervurenlaan 62, 1040-Brussel. Telefoon: 0031-4354044.
Advertentie-exploitatie: D. Weijer. Tel. 05987-23065.

Hoofredacteur: Th.J.M. Martens.

Redactie: Drs. H.E.A. Dassen, Drs. T.J. Kortbeek, J.A.B. Verduijn.

Redactiesecretaresse: T. Habets-Older Juninck.

Redactiemedewerkers: Drs. J.H. Frijlink, A. de Kool, Drs. Chr. Titulaer en Dr. J. Willems.
Wetenschappelijke correspondenten: Ir. J.D. van der Baan, Dr. P. Bentvelzen, Dr. W. Bijleveld, Dr. E. Dekker, Drs. C. Floor, Dr. L.A.M. v.d. Heijden, Ir. F. Van Hulle, Dr. F.P. Israel, Prof. dr. H. Janssens, Drs. J.A. Jasperse, Dr. D. De Keukeleire, Dr. F.W. van Leeuwen, Ir. T. Luyendijk, Dr. C.M.E. Otten, Ir. A.K.S. Polderman, Dr. J.F.M. Post, R.J. Querido, Dr. A.F.J. v. Raan, Dr. A.R. Ritsema, Ir. G.J. Schiereck, Dr. M. Sluysen, Prof. dr. J.T.F. Zimmermann.

Redactie Adviesraad: Prof. dr. W. J. van Doorenmaalen, Prof. dr. W. Fiers, Prof. dr. J. H. Oort, Prof. dr. ir. A. Rörsch, Prof. dr. R. T. Van de Walle, Prof. dr. F. Van Noten.
De Redactie Adviesraad heeft de taak de redactie van Natuur en Techniek in algemene zin te adviseren en draagt geen verantwoordelijkheid voor afzonderlijke artikelen.

Grafische vormgeving: H. Beurskens, W. Keulers-v.d. Heuvel, M. Verreijt.
Druk.: VALKENBURG offset, Echt (L.). Telefoon 04754-1223*.

Artikelen met nevenstaand vignet resulteren uit het EURO-artikelen project, waarin NATUUR EN TECHNIEK samenwerkt met ENDEAVOUR (GB), LA RECHERCHE (F), DIE UMSCHAU (D), SCIENZA E TECNICA (I) en TECHNOLOGY IRELAND (EI), met de steun van het Directoraat-generaal Informatiemarkt en Innovatie van de Commissie van de Europese Gemeenschappen.

Abonnementsprijs (12 nummers per jaar, incl. porto): Voor Nederland, resp. België: f 89,50 of 1725 F. Overige landen: + f 35,- extra porto (zeepost) of + f 45,- tot f 120,- (lucht-post). Losse nummers: f 8,- of 150 F (excl. verzendkosten).

Abonnementen op NATUUR en TECHNIEK kunnen ingaan per 1 januari óf per 1 juli, doch worden dan afgesloten tot het einde van het lopende abonnementsjaar. Zonder schriftelijke opzegging vóór het einde van elk kalenderjaar, wordt een abonnement automatisch verlengd voor de volgende jaargang. TUSSENTIJDEN kunnen geen abonnementen worden geannuleerd.

Postrekeningen: Voor Nederland: nr. 1062000 t.n.v. Natuur en Techniek te Maastricht.
Voor België: nr. 000-0157074-31 t.n.v. Natuur en Techniek te Brussel.

Bankrelaties: Voor Nederland: AMRO-Bank N.V. te Heerlen, nr. 44.82.00.015.
Voor België: Kredietbank Brussel, nr. 437.6140651-07.

Gehele of gedeeltelijke overname van artikelen en illustraties in deze uitgave (ook voor publicaties in het buitenland) mag uitsluitend geschieden met schriftelijke toestemming van de uitgever en de auteur(s).

ISSN 0028-1093

Een uitgave van

 Centrale uitgeverij en adviesbureau b.v.

EURO
ARTIKEL



11 '84

natuur en techniek

natuurwetenschappelijk en technisch maandblad

pag. 838-853

SISO 593, 605.4



H.P. Wit - Het oor - Een ongehoord ingewikkeld zintuig.

In het oor zetten duizenden zintuigcellen geluidstrillingen om in elektrische activiteit, waardoor zenuwvezels worden geprikkeld. Ondanks een geweldige toename van onze kennis van het oor, zijn nog veel zaken onbegrepen. Zo is niet exact bekend hoe de zeer gevoelige zintuigcellen in het oor functioneren. Het vervangen van een beschadigd binnenoor door een 'bionisch' oor lijkt daarom (vooralsnog) een sprookje.

pag. 854-869

SISO 544



G. den Boef - Chemische analysemethoden - In vogelvlucht.

In onze samenleving speelt de controle van de samenstelling van materialen en andere stoffen een zeer belangrijke rol. Bij de produktie is de juiste samenstelling van grondstoffen en eindprodukten van groot belang. Veel waarde wordt gehecht aan nauwkeurig inzicht in de samenstelling van geneesmiddelen, milieuverontreinigingen, etc. Voor de bepaling daarvan wordt een beroep gedaan op de analytisch chemicus.

pag. 870-889

SISO 568.1, 583



L.J. Stal en H. van Gernerden - Microbiële matten - Vliesdun ecosysteem geeft kleur aan het wad.

Tussen het vasteland en de waddeneilanden liggen droge gebieden die bedekt kunnen worden door cyanobacteriën. Als op deze draadvormige organismen sediment neerslaat ontstaan microbiële matten. Zo'n mat is feitelijk een zeer dun ecosysteem, waarin naast cyanobacteriën ook sulfaat reducerende en purperen zwavelbacteriën voorkomen.

pag. 890-897

SISO 627, 694.3, 695.9



Pieter van Dooren - Miss Liberty - Symbool gesaneerd.

In haar kleren zit de mot, het hoofd is naar rechts gezakt, haar toorts is kapot gebrand. Het Amerikaanse Vrijheidsbeeld vertoont na bijna honderd jaar aftakelingsverschijnselen. Voor een groot deel blijken deze te wijten te zijn aan de mensen die haar een eeuw geleden bouwden, met de bedoeling dat ze even oud zou worden als de pyramiden. Nu echter staat zij in de steigers voor een grondige restauratie.

pag. 898-917

SISO 573.4, 575, 608.3



R.A. Driedonks - Antilichaamdiversiteit - Overzichtelijke genetische basis

Antilichamen binden zich aan lichaamsvreemde stoffen (antigenen) en vernietigen deze. Aan elk antigeen binden zich andere antilichamen. Het immuunsysteem moet dus over een grote antilichaamdiversiteit beschikken. De erfelijke basis hiervoor blijkt in een beperkt aantal genen opgeslagen te zijn. Hoe dit mogelijk is, wordt in dit artikel uit de doeken gedaan.

pag. X
pag. 918-920
pag. 921

Bezienswaardig.
Actueel.
Tekst van Toen.

Een aanbieding
voor de
abonnees op

natuur
en
techniek



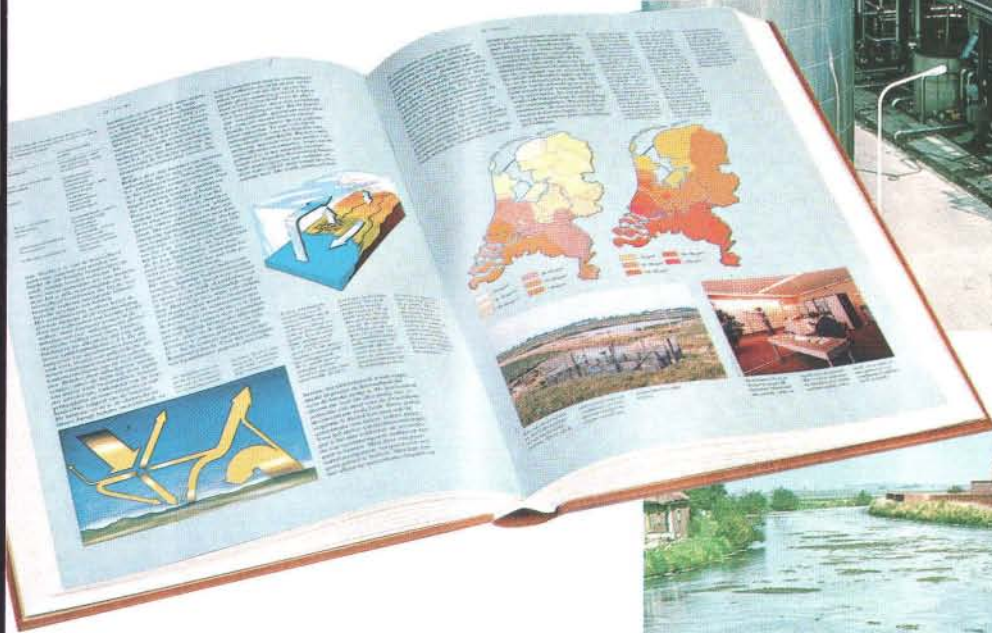
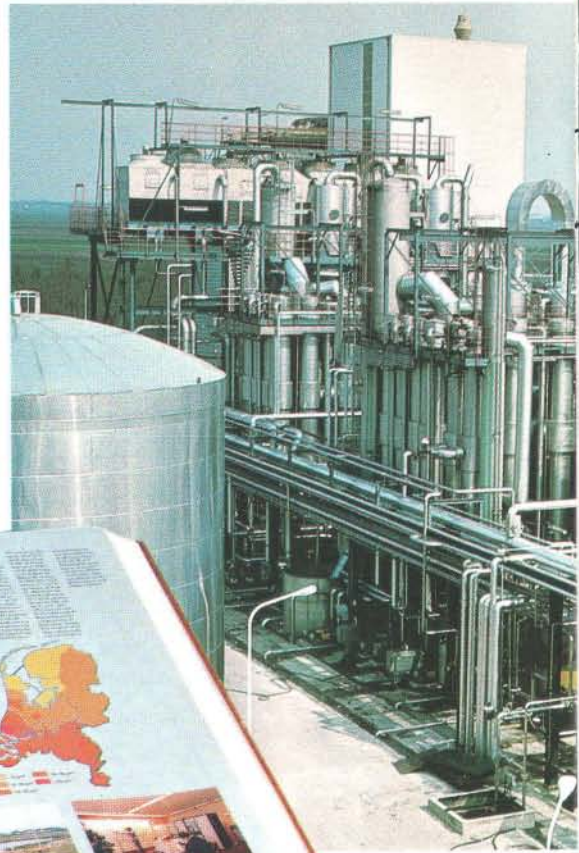
DE LAROUSSE ENCYCLOPEDIE VAN HET MILIEU

Gifbelten onder woonwijken, sterk verontreinigd water, gifneerslag uit de lucht, zure regen die onze bossen doet sterven, geluidshinder, olie-vlekken op zee en de rampzalige gevolgen. Daarvan kennis nemen alléén is niet genoeg!

Deze eerste grote Encyclopedie van het Milieu geeft u daarom de even belangwekkende als onmisbare achtergrondinformatie over oorzaken, gevolgen, wetgeving, maatregelen en oplossingen. In wetenschappelijk verantwoorde en toch prettig leesbare tekst. Met honderden illustraties in kleur en zwart/wit. Met grafieken, schema's en diagrammen. De Larousse Encyclopedie van het Milieu is dan ook een naslagwerk van levensbelang. Voor u, voor uw kinderen en hun kinderen. Want het milieu is de erfenis die we voor onze nakomelingen achterlaten.



Sedert de grote milieubewustwording, aanvankelijk overgewaaid uit de VS en daarna bij ons definitief doorgebroken na het Europese Natuurbeschermingsjaar 1970, zijn steeds bredere lagen van de bevolking getroffen door de snel voortschrijdende afbraak van natuur en milieu. Water-, lucht- en bodemverontreiniging hebben veel mensen geraakt en dit niet alleen als een vaag of een tastbaar gevoel van onbehagen, zoals dat bijv. wordt ervaren wanneer men in een aantrekkelijk landschap of in een fraai stedelijk decor met een stinkende waterloop wordt geconfronteerd. Steeds vaker worden ook door de alomtegenwoordige milieu-

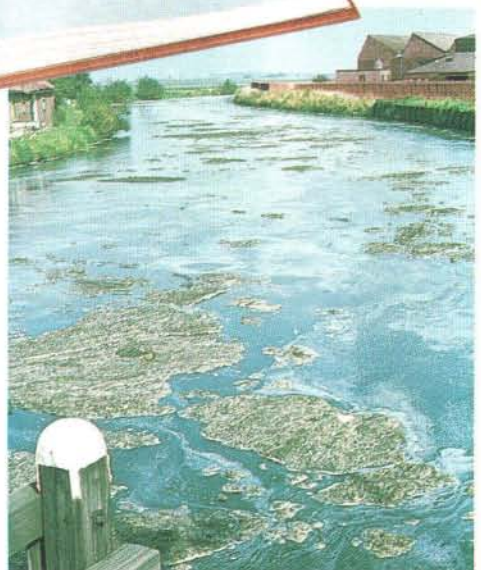


Bij de foto's op de vorige pagina's:

Linksboven: In het kader van geïntegreerde bestrijding van ziekten en plagen wordt gebruik gemaakt van de sluipwesp die parasiteert op de rups van de vruchtenbladroller.

Links: Sportvisserij, voor de miljoenen hengelaars een zinvolle vrijetijdsbesteding; anderen beschouwen het als onnodig dierenleed en bedreiging van de visstand.

Onder: Het polderlandschap ligt in gebieden waarvan de waterstand beheerst wordt door dijken en gemalen.





Linksonder: Door de Wet Verontreiniging Oppervlaktewateren is aan deze situatie in de jaren zeventig een einde gekomen. Toen werd het water flink verontreinigd door het afvalwater van de Groningse strokartonindustrie.

Links: De procesgang van in de aardappelmeelfabriek te Gasselternijveen is een van de schoolvoorbeelden van de mogelijkheden van schone technologie. Door wijzigingen in het vroegere productieproces kan men nu concurrerend produceren terwijl de vervuiling sterk teruggedrongen is.

Onder: Moeilijk te verwerken afval leidt tot milieuproblemen. De kosten die nodig zijn om bijvoorbeeld verfstoffen te verwijderen of blik opnieuw als grondstof te gebruiken, zouden doorberekend moeten worden in de prijs van het produkt.



verontreiniging mensen getroffen in hun materieel belang en ook, wat in wezen nog veel erger is, in hun gezondheid.

Aan de milieuvervuiling in al haar facetten, aan de afbraak van natuur en landschap kan niet meer voorbijgegaan worden in de moderne westerse maatschappij. De strijd ertegen, aanvankelijk een zaak van natuur-beschermers, groencomité's en milieu-activisten, is evenzeer een taak geworden van overheidsfunctionarissen, beleidsmensen en politici.

Het is zonder meer duidelijk dat een werk als deze encyclopedie op dit ogenblik, midden jaren tachtig, op tijd komt. In het achter ons liggende decennium is immers een geheel nieuwe terminologie in gebruik gekomen, eerst in vakkringen, maar daarna ook in veel bredere kring. Radio, TV en de geschreven pers hebben de

milieutaal als het ware ingevoerd in de algemene omgangstaal.

Het is van belang dat de betrokken termen op gepaste en juiste wijze worden gebruikt. Dat geldt uiteraard voor de vakkringen, maar daarom niet minder voor de dagelijkse omgangstaal. Een correcte en dus efficiënte vaktaal is trouwens een vereiste, ook in alle andere disciplines. Elk milieu-onderwerp kunt u wel terugvinden in deze encyclopedie. Want dit naslagwerk is gericht op de dagelijkse praktijk.

De Larousse Encyclopedie van het Milieu geeft u niet alleen een inzicht in de vele milieuproblemen, maar laat ook het onderlinge verband zien. Dit naslagwerk van formaat houdt niet op bij signaleren, maar analyseert en geeft oplossingen aan. Objectief, maar volledig.

Deze encyclopedie heeft zeer actuele onderwerpen, zonder de geschiedenis te vergeten, want daarin liggen nu eenmaal vele oorzaken van de milieuproblematiek. Maar ook de problemen die in de toekomst urgent kunnen worden en oplossingen die in de toekomst gestalte kunnen krijgen worden uitgebreid behandeld, dank zij het aanboren van wetenschappelijke bronnen in de hele wereld.

Vooraf ook voor gezinnen met opgroeiende kinderen, voor studerende, voor onderwijsgevers en voor instellingen op het gebied van natuur en milieu, de mensen die daar werken en diegenen die beleidsmatig bij het milieu betrokken zijn.

Een naslagwerk van formaat in één compleet boek!

- Inleidend overzicht met problematiek en geschiedenis van milieuverontreiniging en milieubeheersing
- Alfabetisch gedeelte met meer dan 3500 trefwoorden: van Afvalverwerking tot Zure Regen
- Aanvullend register
- 576 pagina's belangwekkende informatie
- Wetenschappelijk verantwoord en toch prettig leesbaar geschreven tekst
 - 200 medewerkers
 - Meer dan 700 illustraties in kleur en 100 in zwart/wit
 - Talloze verhelderende schema's, grafieken en diagrammen.



Een uitgave van

**natuur
en
techniek**

Op de Thermen -
Stokstraat 24
6211 GD MAASTRICHT





Boven: Het Waddengebied is een zeer waardevol natuurgebied. Hoe lang nog?

Onder: De Ooijpolder bij Nijmegen is een gevarieerd waterrijk gebied met enkele oude rivierstrangen. De polder is rijk aan (water)vogels en herbergt enkele bijzondere plantengemeenschappen. Plannen om het gebied te doorsnijden met een nieuw kanaal voor de scheepvaart (zesbaks-duwvaart) zijn voorlopig op de lange baan geschoven.

Prijs straks in de boekhandel: f 179,50 of 3450 F.

Voor abonnees op Natuur en Techniek thans f 149,50 of 2850 F.

De Encyclopedie van het Milieu is voor onze abonnees tevens verkrijgbaar tegen betaling in twee termijnen.

U kunt deze encyclopedie verkrijgen door gebruik te maken van de acceptgirokaart of het overschrijvingsformulier, die bij dit nummer is ingesloten.

Uw betaling geschiedt dan in twee termijnen, elk van f 79,75 of 1525 F (incl. verzendkosten aan uw adres). Met deze girokaart of het overschrijvingsformulier (waarop uw naam en adres en uw abonneenummer zijn vermeld) betaalt U het eerste gedeelte.

Het boek wordt U dan binnen 14 dagen toegezonden. Daarbij ontvangt U een tweede girokaart of overschrijvingsformulier, voor eenzelfde bedrag. Dit laatste bedrag zien wij dan gaarne vóór 1 februari 1985 van U tegemoet.



**VOOR DE
DECEMBER
MAAND**

Een aanbieding voor de kinderen van de abonnees op Natuur en Techniek

SPROOKJES ZIJN LEUKER DAN DE WERKELIJKHEID

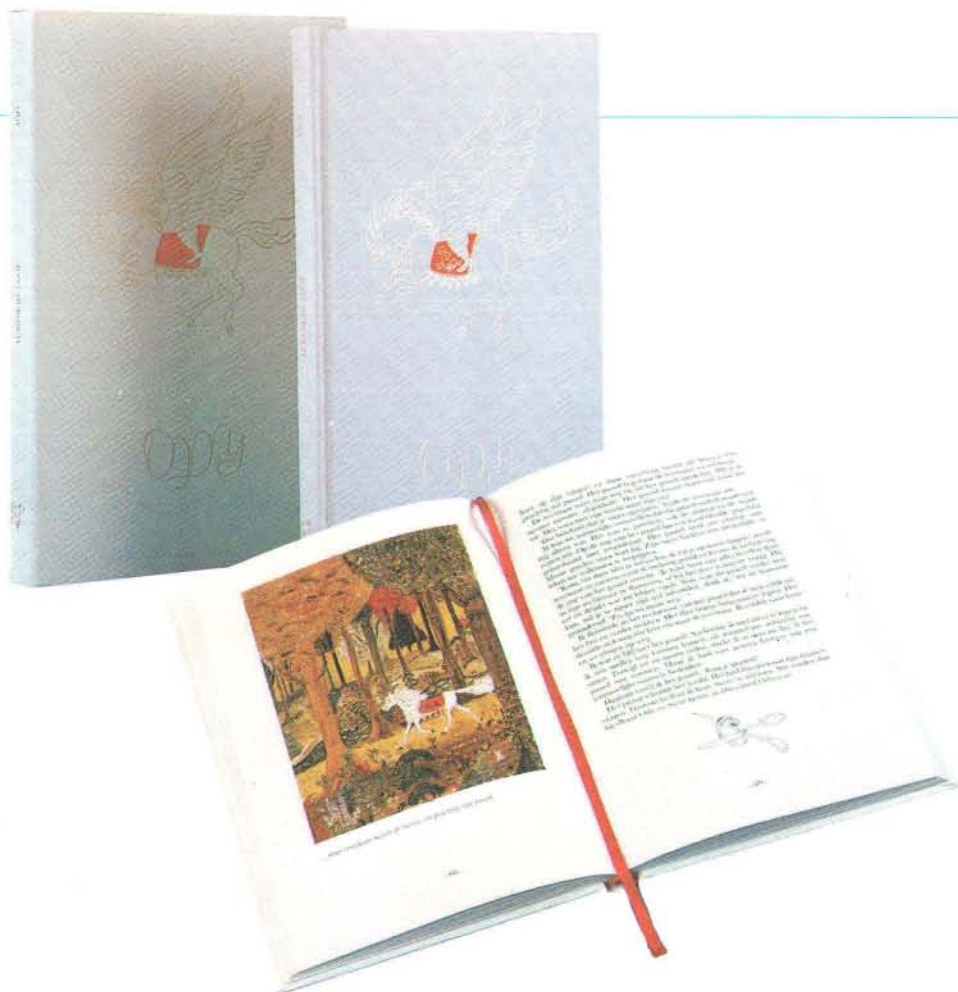
Zo begon één der grootste dagbladen onlangs in een pagina-groot artikel over het verschijnen van het boek ODY in november 1983. Een paar miljoen kinderen zagen vervolgens de presentatie van dit verrassend kinderboek bij STUIF-ES-IN op de televisie, of luisterden naar een van de interviews met de schrijfster op de radio.

De schrijfster van ODY is voor Natuur en Techniek geen onbekende: een jonge vrouw, Jony Dubosch, pseudoniem voor Jorri Duursma, en hetzelfde meisje dat op 20

oktober 1982 het eerste exemplaar van onze jubileumuitgave DE NEDERLANDSE DELTA aanbood aan H.K.H. Prinses Juliana. Misschien is ODY wel een onverwacht neveneffect van het maken van dit standaardwerk, dat in haar omgeving plaatsvond?

Natuur en Techniek heeft gemeend, hoewel dit geen wetenschappelijk boek is, de kinderen van haar abonnees dit boek niet te mogen onthouden en hen in de gelegenheid te stellen deze uitgave tegen een speciale prijs te verkrijgen. U kunt hiervoor gebruik maken van de bestelkaart achterin dit nummer. ODY wordt u dan voor uw kind(eren) per omgaande toegezonden.





Natuur en Techniek gaf ODY ter beoordeling van de bekende schrijver Jos Vandeloo. Uit zijn recensie citeren wij het volgende:

"Een van de beste jeugdboeken, die ik tijdens de jongste jaren gelezen heb. Niet-tegenstaande haar prille leeftijd (Jony Dubosch is nu zestien, maar ze schreef dit boek toen ze er amper dertien was), laat ODY een rijpe indruk na, zowel qua taalvaardigheid als wat betreft een algemene eruditie.

De hoofdfiguur in het boek heet Ody, een jongen zonder vader. Omdat hij zo vaak in het dorp waar hij woont door de bekrompen dorpelingen wordt gepest, gaat hij op een mooie dag in zijn eentje op avonturenreis naar het zuiden. In die grote, vreemde en vijandige wereld komt hij altijd opnieuw in gevaarlijke situaties terecht; in een wereld bewoond en bevolkt door hoogst ongewone mensen, dieren, voorwerpen en dingen. Haar Ody weet zich uit elk avontuur en si-

tuatione te redden, omdat hij vier belangrijke gaven blijkt te bezitten: zachtmoedigheid, betrouwbaarheid, goedheid en slimheid.

De lezer wordt steeds weer getroffen door de kinderlijke verbeelding, die ook volwassenen sterk aanspreekt. Een sterk en verrassend boek, dat vele jonge en minder jonge lezers verdient . . ."

ODY

Jony Dubosch

Met illustraties van Cees Deen.

Een uitgave, met bedrukte cassette, in wit kunstleer met goud opdruk, 4-kleuren platen en zwart-wit tekeningen, 166 pagina's met speciale boekenlegger.

Prijs in de boekhandel: f 39,95 of 775 F.
Prijs voor onze abonnees: f 30,- of 575 F (excl. verzendkosten).

Chemie, een alledaagse zaak

De gevoelens die de gemiddelde leek koestert ten opzichte van de chemie variëren van angst via woede tot onverschilligheid. Maar bewondering is er niet veel bij voor deze meestal slecht gekende, mysterieuze wetenschap. De toepassingen van de chemie zijn nochtans overal. Je staat er als het ware mee op en je gaat er mee slapen. In de hygiëne, in de nieuwe materialen, in de energie, in de communicatie, overal spreekt de chemie zijn woordje mee. Maar die alomtegenwoordigheid is zo vanzelfsprekend geworden dat ze niet meer opvalt. De risico's en de nadelen van de chemische toepassingen daarentegen vallen des te meer op. Je wordt er dan ook voortdurend met de neus opgedrukt.

Daarom is er nu een reizende tentoonstelling die een beeld schetst van het 'gewone' en het 'onvermijdelijke' van de chemie in het dagelijks leven. Ze richt zich tot een breed publiek, zonder er daarom voor terug te schrikken om af en toe een chemische formule op te dienen om U tegen te zeggen. Ze richt zich vooral tot de leerlingen van het middelbaar onderwijs, die er rijkelijk stof tot discussie in zullen vinden, maar ook illustratie bij hun opleiding.

De reizende chemie tentoonstelling is *gratis* ter beschikking voor scholen, scholengemeenschappen, culturele centra, verenigingen enz. . . De huur van een geschikte ruimte, evenals het afsluiten van een verzekering zijn ten laste van de vrager. Buiten (Belgisch) Limburg vallen ook de vervoerskosten ten laste van de aanvrager.

Er wordt contact gezocht met de chemische industrie om de exploi-

tatie van de tentoonstelling te sponsoren.

Voor verdere inlichtingen kan men zich wenden tot het Limburgs Universitair Centrum, Universitaire Campus, 3610 Diepenbeek. ☎ 011/22 99 61.

Holografie

In het Technisch Tentoonstellingscentrum (TTC) te Delft is de permanente tentoonstelling Holografie te zien, die uit twee delen bestaat. In het eerste deel wordt verklaard wat holografie is, hoe men hologrammen maakt, hoe de drie-dimensionale beelden ontstaan, welke soorten hologrammen er zijn en waarvoor holografie in de techniek wordt toegepast. De theorie wordt toegelicht met een aantal opstellingen, waarvan een deel door het publiek zelf kan worden bediend. In het tweede deel is een 30-tal hologrammen geëxposeerd. Kortgeleden zijn er enkele unieke nieuwe hologrammen bijgeplaatst.

Het TTC is gevestigd aan de Kanaalweg 4 in Delft. Het is dagelijks geopend van 10-17 uur en op zondag van 13-17 uur. De toegang is gratis. Voor informatie ☎ 015-783038.

Zure regen

De afgelopen jaren is er internationaal een toenemende bezorgdheid over de gevolgen van luchtverontreiniging en de zogenaamde 'zure regen'. Vooral de gezondheidstoestand van de bossen vervult velen met grote zorg.

Staatsbosbeheer wordt dan ook overstelpt met vragen als: Wat is

zure regen? Hoe ontstaat het? Wat zijn de gevolgen? Is het alleen de zure regen die de bossen aantast? Wat kunnen we er aan doen?

Al deze vragen waren voor Staatsbosbeheer aanleiding om een tentoonstelling aan dit onderwerp te wijden. In de tentoonstelling wordt het publiek geconfronteerd met de bronnen van luchtverontreiniging en de gevolgen. Ook wordt ingegaan op de maatregelen die nodig zijn.

Door middel van foto's, teksten, videoprogramma's, een klein laboratorium waar men zelf proeven kan doen en bijv. een echte snuffelpaai wordt de bezoeker op speelse doch indringende wijze geïnformeerd en bij de problematiek betrokken.

De tentoonstelling is te zien in kasteel Groeneveld in Baarn en is geopend op dinsdag, woensdag en vrijdag van 10 tot 17 uur en op zaterdag en zondag van 12 tot 17 uur. Voor inlichtingen: ☎ 030-852409.

Intermineraal

In de Noordhal van de RAI te Amsterdam wordt op zondag 25 november 1984, van 's morgens 10 uur tot 's middags 5 uur een grote mineralenshow gehouden.

Op ruim 450 strekkende meter tafel zullen honderdveertig standhouders uitstallen wat de natuur, in een verbazingwekkende verscheidenheid aan kleuren en vormen, diep in de aardkorst en onvoorstelbaar lang geleden, gevormd heeft.

De entreprijzen bedragen slechts f 4,- voor volwassenen en f 2,50 voor kinderen tot 15 jaar en voor houders van een 65+ pas. Voor informatie: ☎ 08894-15273 (na 17.00 uur).

DE AUTEURS

Dr. ir. H.P. Wit ('Het oor') werd in 1944 in Stadskanaal geboren. Hij studeerde van 1961 tot 1971 technische natuurkunde aan de Rijksuniversiteit Groningen, waar hij in 1976 promoveerde. Hij is een aantal jaren werkzaam geweest in het onderwijs. Momenteel is hij wetenschappelijk hoofdmedewerker aan het Audiologisch Instituut van de RU Groningen.

Prof. dr. G. den Boef ('Chemische analysemethoden') werd in 1926 in Rotterdam geboren en studeerde de scheikunde aan de Universiteit van Amsterdam waar hij in 1958 promoveerde. In 1961 werd hij benoemd tot lector, in 1970 tot hoogleraar in de analytische chemie. Van 1976 tot 1979 was hij rector-magnificus van de Universiteit van Amsterdam. Thans is hij onder andere secretaris van de Analytical Division van de International Union of Pure and Applied Chemistry.

Drs. L.J. Stal ('Microbiële matten') is op 2 februari 1952 in Groningen geboren. Tussen 1971 en 1978 studeerde hij biologie in zijn geboorteplaats. Sinds 1979 is hij wetenschappelijk medewerker bij de werkgroep Geomicrobiologie van de biologische faculteit van de universiteit van Oldenburg in de Bondsrepubliek Duitsland.

Dr. H. van Gernerden ('Microbiële matten') is in 1936 in Rotterdam geboren. Hij studeerde biologie in Leiden, waar hij in 1967 promoveerde. Sindsdien is hij verbonden aan de werkgroep Microbiële Oecologie van de Rijksuniversiteit Groningen. In het jaar 1975/1976 was hij gasthoogleraar aan het Department of Bacteriology van de universiteit van Wisconsin (USA).

Lic. Pieter Van Dooren ('Miss Liberty') werd op 29 juni 1954 te Baasrode geboren. Van 1972 tot 1977 studeerde hij scheikunde aan de Rijksuniversiteit Gent. Na enige jaren als leraar wetenschappen gewerkt te hebben, werd hij in 1980 redacteur van Natuur en Techniek. Sinds september van dit jaar is hij als redacteur wetenschappen verbonden aan het dagblad De Standaard.

Dr. ir. R.A. Driedonks ('Antilichaamdiversiteit') werd op 4 april 1948 te Maartensdijk geboren en studeerde scheikunde aan de TH Eindhoven. In 1978 promoveerde hij, waarna hij een drietal jaren werkzaam was als onderzoeker bij het Biozentrum van de universiteit van Basel. Sinds 1982 is hij hoofd van de afdeling Immunochemie van het Unilever Research Laboratorium in Vlaardingen.

COLUMN

Een dag uit het leven

06.30 uur. Het geluid van de wekker dringt maar heel langzaam tot prof. Nikolaas door. Het is ook pas drie uur geleden dat hij meer in arren moede dan tevreden een punt zette achter het bijschaven van de vierde versie van de zeven ZWO-aanvragen voor zijn vakgroep. Hij strompelt naar het koffie-apparaat en doet er roekeloos veel koffie in met de smoes dat hij nog te slaperig is om het goed te zien.

07.30 uur. Doornat geregend zet hij zijn fiets met de drie kettingen vast; minder kan niet, want wielen zijn zo gedemonteerd en verdwenen. De auto heeft hij twee jaar geleden moeten verkopen toen bij de extra salarismaatregel voor vast universitair personeel voor 1990 de som van de tijdelijke, extra en bijzondere salarismaatregelen was opgelopen tot 32,48 procent van het schaalbedrag. Van de 750 gulden die hij toen nog overhield na betaling van hypotheek, GEB enzovoort kon hij geen auto meer houden.

07.35 uur. De interne post heeft al het een en ander bij hem afgeleverd. Er is een dikke envelop van het College van Bestuur bij. Daarin zitten kopieën van brieven van het departement en een vragenlijst. Nikolaas kijkt de brieven door. Het onderzoeksbudget van de universiteit, staat er, is vastgesteld op veertig procent van het totale budget. Gelet op het gemiddelde inkomen van de instellingen uit tweede en derde geldstroom zal in de komende jaren bij wijze van proef 28,67 procent van het onderzoeksbudget door het rijk worden bekostigd, voor de rest moet de universiteit zichzelf maar bedruipen. Er is ook een stuk over onderwijs. Daarin staat vermeld dat de instellingen worden geacht binnen vier jaar de helft van hun onderwijskosten te dekken uit onderwijscontracten met derden. De minister wijst op de mogelijkheid in het kader van de universitaire opleiding tegen vergoeding personen uit het bedrijfsleven cursussen te geven. Voorts oppert hij de mogelijkheid in dit verband studenten een sponsor te laten zoeken voor hun studie, zodat ook zij in staat zullen zijn per college de werkelijke kosten te betalen. "Wij zien het als een groot maatschappelijk belang, dat de opleidingen nauw aansluiten bij de

maatschappelijke behoeften en wij menen dit te kunnen nastreven door te bevorderen dat vooral die colleges worden gegeven die een erkenning vinden in de vorm van een betaling." Er is ook een brief van ZWO: gezien het grote aantal aanvragen is er vertraging opgetreden in de behandeling. "Het zal u duidelijk zijn, dat bij de gegeven begroting er nog zorgvuldiger moet worden beoordeeld dan vroeger reeds het geval was." Ofwel: De kans dat u iets krijgt is klein.

08.30 uur. 942 Ogen kijken hem aan. Zijn universiteit is zwaartepunt analytische chemie, de enige plaats in het land waar men dat vak kan doen. Dat geeft grote aantallen eerstejaars. Zouden de 150 mensen die ondanks deze college's in de volgende jaren komen allemaal een sponsor kunnen vinden? Of rijke familie hebben? Nikolaas is moe en hij constateert dat er in de loop van het uur steeds minder ogen op hem gericht zijn.

09.55 uur. De vergadering is in het vroegere biologiegebouw. Dat zwaartepunt is nu aan een andere universiteit en daarom is daar ruimte beschikbaar. Nikolaas springt opzij, maar de Mercedes 800 GXTLIE gaat door een zo diepe kuil in de verwaarloosde bestrating dat de modder toch nog vrij hoog opspat. De bestuurder wacht op hem bij de deur. Het is drs. Joosten, die twee maanden geleden bij een groot bedrijf is weggekocht waar hij veel met computers had gespeeld.

10.15 uur. Hij betrapt zich erop dat hij de aanwezigen niet meer indeelt naar speciale kennis, maar naar de herkomst van hun salaris. Er zijn drie fte's voorwaardelijke financiering (salaris f 1500,- per maand), een ZWO (f 2600,- per maand) en dan natuurlijk Joosten (f 15000,- per maand) voor rekening van de universiteit, net als hijzelf min of meer. Joosten beschrijft de apparatuur die nodig is, een verbeterde versie van wat hij in het bedrijf ter beschikking had. Nikolaas hoort nauwelijks wat er wordt gezegd. Als er een stilte valt en iedereen naar hem begint te kijken, zegt hij: "En wat gaat dat kosten?" Als hij, na het antwoord, een lachbui heeft onderdrukt, zegt hij: "Ik zal zien of we dat in een paar contracten kunnen onderbrengen." Er is geen sprake van dat zoiets uit de reguliere begroting kan.

12.30 uur. Terug op zijn kamer leest hij: "Teneinde de mobiliteit onder het wetenschappelijk personeel te bevorderen en zoveel mogelijk personen de gelegenheid te geven hun positie op de arbeidsmarkt te verbeteren door het opdoen van onderzoekservaring, heb ik besloten de kosten van een fte in het kader van de voorwaardelijke financiering gelijk te stellen met de loonkosten van een assistent-onderzoeker in opleiding, vermeerderd met tien procent voor overheadkosten. Tevens heb ik besloten de aanstellingsduur van deze assistent-onderzoekers in opleiding te beperken tot anderhalf jaar. Deze maatregel gaat in met terugwerkende kracht op 1 januari j.l. Ik verzoek de Colleges van Bestuur deze maatregel met spoed en zorgvuldigheid tot uitvoering te brengen." Hij is nog niet klaar met het invullen van de vragenlijst wanneer de eerste binnenkomt van de drie promovendi met wie hij voor die middag een afspraak heeft.

17.30 uur. Hij steekt de vragenlijst en een onderzoeksvoorstel van een promovendus in zijn tas en gaat snel naar de lift. Onderweg vraagt hij zich af of hij zijn vrouw wel heeft gewaarschuwd en bij de vroegere portiersloge, vroeger waren er portiers in zulke gebouwen, belt hij naar huis dat hij nog een afspraak heeft. Zijn vrouw is boos: het eten staat al op.

18.00 uur. Nadat hij zich in het toilet wat heeft gedroogd en z'n kleren gefatsoeneerd stapt hij glimlachend af op de kleine delegatie van de plaatselijke aardewerkfabriek die in de bar op hem wacht. Zou hij een deel van de apparatuur die Joosten wil hebben in hun contract kunnen schuiven? De maaltijd is uitstekend. Ook de kosten daarvan moeten in het contract, bedenkt Nikolaas terwijl hij betaalt. Ze zijn het nog niet eens geworden. Het bedrijf wil meer onderzoek en minder betalen, maar deze keer kan Nikolaas hard zijn: buiten zijn vakgroep kunnen ze immers nergens terecht?

23.30 uur. Nikolaas legt de inhoud van zijn tas op zijn tafel en begint met het invullen van de vragenlijst.

02.45 uur. Als hij ontdekt dat hij zich niet meer herinnert wat er in de vorige zin stond besluit hij naar bed te gaan.

A. de Kool

Analytische chemie

Met dit nummer start de publikatie van een nieuwe reeks artikelen over analytische chemie. Een nieuwe reeks, de derde in ongeveer vijftien jaar over hetzelfde onderwerp. De reden voor deze 'herhaling' is bepaald niet, dat de redactie moeite heeft het blad te vullen, maar ligt in de snelle ontwikkeling van de analysetechnieken, waardoor artikelen van enkele jaren geleden al weer verouderd zijn. Er is dus geen sprake van een herhaling – behalve wellicht bij de behandeling van de basisprincipes, die wijzigen niet zo snel – maar van een noodzakelijke vernieuwing.

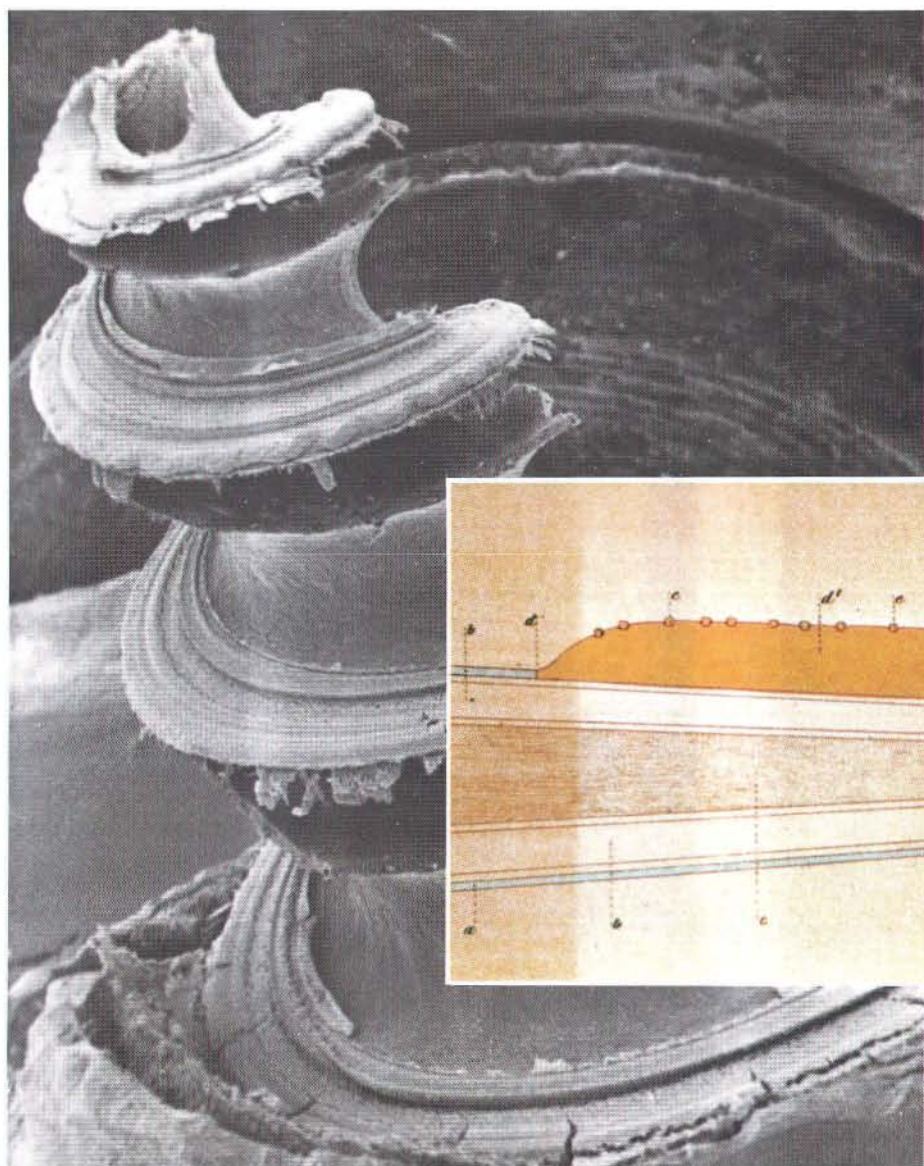
Analytische chemie is allang geen vak meer in de zin van een verzameling kennis en vaardigheden die eigendom kunnen zijn van één persoon. De technieken zijn te verschillend, te omvattend, ook voor wat betreft hun theoretische achtergrond, dan dat ze binnen het bestek van een universitaire of HBO-studie voldoende grondig allemaal zouden kunnen worden verwerkt. Er worden superspecialisten opgeleid.

Terecht wijst G. den Boef er in zijn inleidende artikel (pag. 854 e.v.) op, dat de samenleving op steeds meer gebieden in toenemende mate afhankelijk is van de werkzaamheden van deze superspecialisten. De eisen die in de elektronica aan de zuiverheid van de stoffen, en daarmee aan de analysemethoden, worden gesteld zijn fabelachtig. Op andere gebieden, van sterrenkunde tot milieubeheer en landbouw volgen de eisen getrouw de mogelijkheden die analytisch-chemici aandragen.

Er blijven daarbij twee problemen spelen, met name bij de toepassing van analytische chemie op het milieu. Het eerste is dat in het algemeen gesproken ook de meest verfijnde methode, juist de meest verfijnde methode, geen antwoord kan geven op wat niet is gevraagd en ook al te globale vragen uitsluit.

Men zal zelden of nooit stoffen of bestanddelen kunnen opsporen waarnaar men niet specifiek op zoek was. Dit levert een inherente onzekerheid op: ook als een bepaalde, meestal van iets engs verdachte stof niet wordt aangetroffen, betekent dat nog geenszins dat er niet andere, ten minste even enge stoffen aanwezig kunnen zijn. Per slot van rekening is wel bekend van welke stoffen bijv. de chemische industrie heel veel voortbrengt, maar daarnaast komen er, ook in de wereld van de bloemetjes en bijtjes, vele tienduizenden stoffen vrij die gewoon onbekend zijn.

Het tweede probleem is, dat de verbeterde analysemethoden geenszins bijdragen tot een groter gevoel van veiligheid bij de bevolking. Het toenemen van de gevoeligheid brengt ook een toename van vondsten mee. Wat men bij een gevoeligheid van 10 ppm nimmer kon aantreffen, springt er wellicht uit als de gevoeligheid in de richting van 1 ppb gaat. En dan is Leiden vaak in last, ook al omdat de chemie er wel steeds beter in slaagt nieuwe analysemethoden te vinden, maar nog niet toe schijnt te zijn aan de slechting van de muren tussen chemie en het grote publiek. De aanwezigheid van 3 ppb ascorbinezuur (vitamine C) of 230 ppb natriumchloride (de krant spreekt tegenwoordig weer braaf van sodiumchloride, ze bedoelen dan gewoon keukenzout) in drinkwater brengt meer mensen in paniek dan wenselijk is.

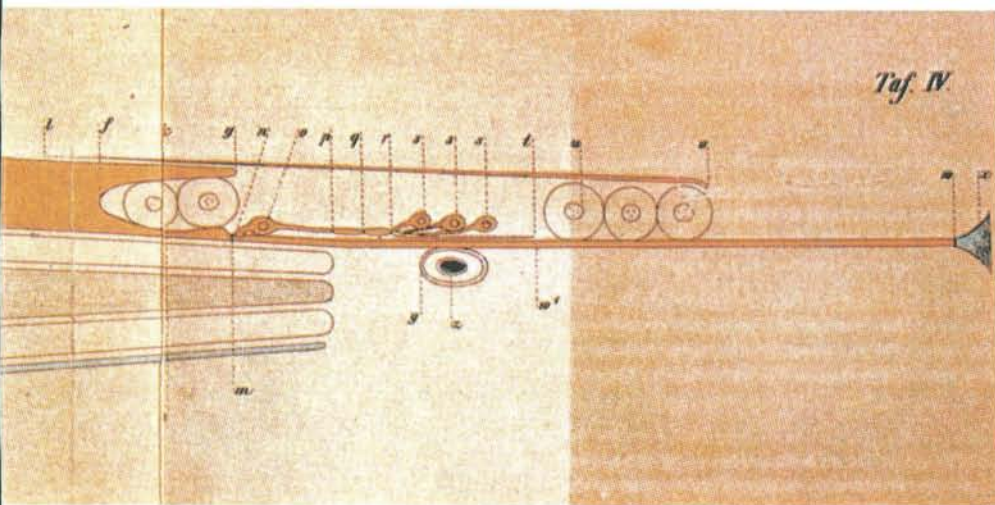


HET OOR

Een ongehoord ingewikkeld zintuig

In het oor zetten duizenden zintuigcellen geluidstrillingen om in elektrische activiteit, waardoor zenuwvezels worden geprikkeld. Door de ingenieuze bouw van het oor zijn we in staat om (spraak-) klanken van elkaar te onderscheiden, heel zwakke geluiden waar te nemen, de richting van het geluid te bepalen, enz. Het gehoor speelt een essentiële rol in de communicatie. Bij een aantal dieren is het het best ontwikkelde zintuig. Ondanks een geweldige toename van de kennis betref-

fende de werking van het oor gedurende de afgelopen 40 jaar, zijn nog veel zaken onbegrepen. Zo is bijvoorbeeld niet precies bekend hoe de zeer gevoelige zintuigcellen in het oor functioneren. Een fundamenteel probleem bij het onderzoek is dat de structuren in het binnenoor zo kwetsbaar zijn, dat ze vrijwel ontoegankelijk zijn voor directe metingen. Het vervangen van een beschadigd binnenoor door een 'bionisch' oor lijkt daarom (voorlopig) een sprookje.



Links: Een opname met de scanningelektronen-microscop (SEM) van de cochlea van een cavia, nadat de benige buitenwand van de cochlea voorzichtig is verwijderd. Door het prepareren van de cochlea voor de opname is de tectoriaalmembraan, die normaal de bovenkant van de haarcellen bedekt, weggeklapt. Hierdoor krijgen we een fraai uitzicht bovenop

de basilaire membraan, die als een glijbaan rond de stam van de cochlea naar beneden slingert.

Boven: In 1851 publiceerde Alfonso Giacomo Gaspare markies di Corti (1822-1876) tekeningen van het naar hem genoemde orgaan in het binnenoor. Duidelijk zijn de met s gemerkte haarcellen te zien.

Historie

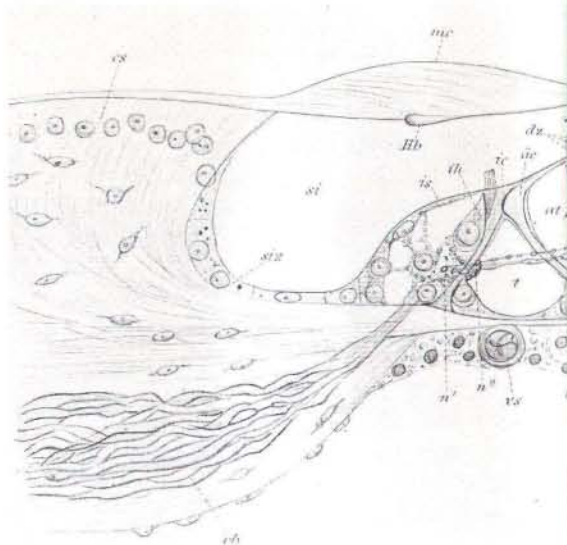
“ soo ontstaat in deselve een (circulare) omloopende beweeginge, die door 't Oore op 't vlies valt; 't welke door eene bevende beweeginge de teedere Zenuwen of Veelseltjes van 't Gehoor verwekt en trekt; daardoor de Herssens, en in deselve sonderling de (Glandula pinealis) Pijnappelklier, als de rustplaats der Ziele, werdt geafficieert of aangedaan.”

Aldus werd in 1730 in het boek 'Nederduytsche Physica' de werking van ons gehoororgaan beschreven. Hoewel de anatomie van het oor in grote lijnen bekend was (trommelvlies, gehoorbeentjes), had men er nog geen idee van hoe in het oor geluidstrillingen worden omgezet in zenuwactiviteit.

Pas in de vorige eeuw slaagde men erin goede microscopische preparaten van het binnenoor van zoogdieren te maken en ontdekte de Markies van Corti in 1851 het naar hem genoemde orgaan in de cochlea (slakkenhuis) in het binnenoor, waarin zich de zintuigcellen bevinden. Corti vervaardigde microscopische preparaten van ca. 200 oren van verschillende zoogdieren. Tekeningen hiervan werden gebundeld in het boek 'Recherche sur l'organe de l'ouïe des mammifères' (zie de illustratie op de openingspagina van dit artikel). Hoe de gehoorzenuw precies wordt gestimuleerd bleef echter onbekend.

In zijn beroemde boek 'Die Lehre von den Tonempfindungen als physiologische Grundlage für die Theorie der Musik' stelt de Duitse natuurkundige Von Helmholtz in 1862 dat aan het uiteinde van elke zenuwvezel op de basilair-membraan kleine elastische delen voorkomen, waarvan hij aanneemt dat die door de geluidsgolven in trilling gebracht worden. Deze zouden, als pianosnaren, op verschillende frequenties zijn afgestemd. Tegen het einde van de vorige eeuw was het duidelijk geworden dat de zenuwvezels in de gehoorzenuw zijn verbonden met zintuigcellen in het orgaan van Corti. Onder andere de Zweedse histoloog-anatoom Retzius (1842-1919) leverde hieraan een belangrijke bijdrage.

Meer inzicht in de werking van deze haarcellen werd ruim vijftig jaar geleden verkregen, toen men in staat was kleine elektrische spanningen uit de gehoorzenuw met vacuümbuizen voldoende te versterken. Zo ontdekten Wever



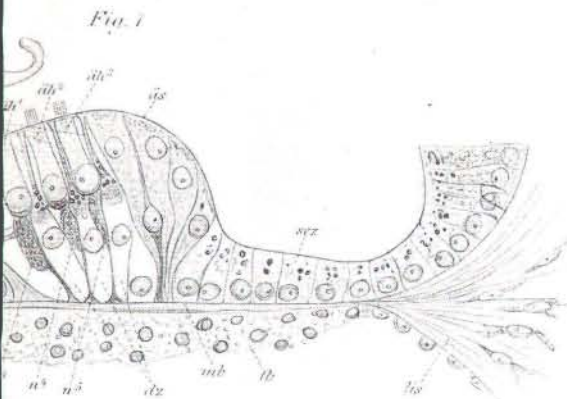
Boven: Een door Gustaf Retzius getekende doorsnede van het orgaan van Corti van de mens. De met moderne lichtmicroscopische technieken te maken diagrammen van het inwendige oor zijn nauwelijks beter dan die welke Retzius een eeuw geleden met primitieve middelen vervaardigde. Onder andere zijn te onderscheiden: de binnenste haarcel (ih), drie buitenste haarcellen (äh), zenuw-

en Bray, verbonden aan de Universiteit van Princeton, een door de haarcellen opgewekte wisselspanning tijdens stimulatie van het oor met geluid. Zij concludeerden dat het binnenoor zich ten dele gedraagt als een microfoon, waarin ook een geluidssignaal wordt omgezet in een elektrisch signaal.

De haarcellen zelf zijn zo klein en kwetsbaar dat bestudering daarvan toen nog niet mogelijk was. Nog in 1949 schrijft Wever in zijn boek 'Theory of Hearing' dat het fysiologische mechanisme waarmee in de haarcellen een mechanische prikkel in een elektrische potentiaal wordt omgezet niet onderzocht, maar slechts beredeneerd kan worden.

Eerst omstreeks 1970 lukte het enkele onderzoekers om door middel van een in een haarcel geprikte micro-elektrode aan te tonen dat de elektrische spanning in de cel verandert als de haartjes bovenop de cel bewegen. Ondanks veel onderzoek in de afgelopen jaren met toepassing van ingenieuze technieken, blijft de exacte werking van de zintuigcellen in het oor voorlopig duister.

Bouw van het oor van de mens



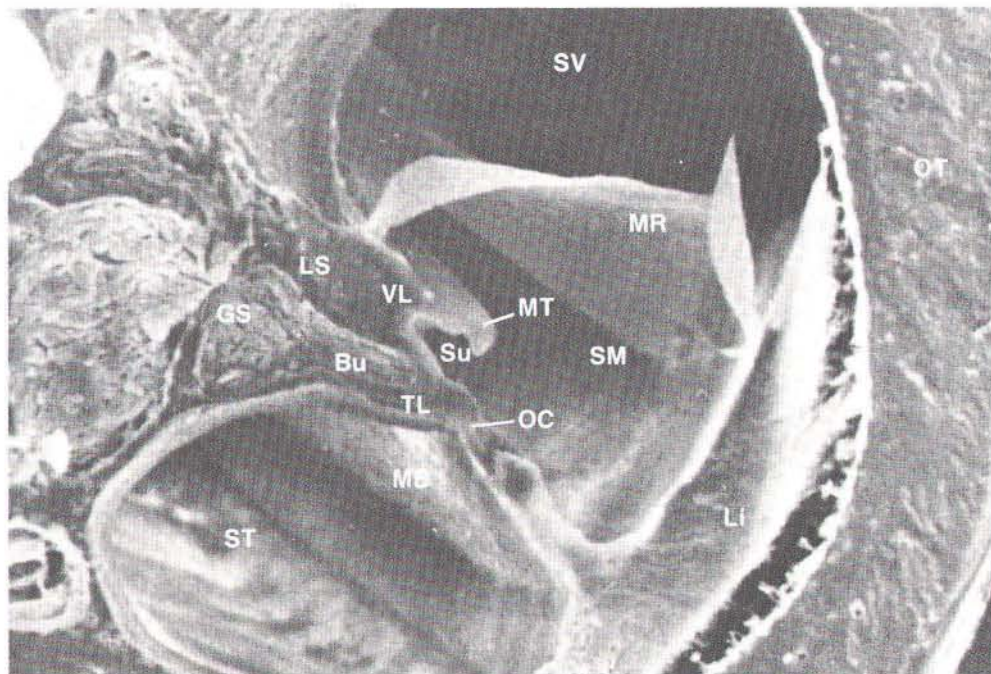
vezels (n^1 , n^2 , n^3 , n^4 en n^5), de tectoriaal membraan (mc) en de basilaire membraan (mb).

Onder: Een elektronenmicroscopische opname van een doorsnede van de middelste winding van de cochlea, met van boven naar beneden de scala vestibuli (SV), de membraan van Reissner (MR), de scala media (SM), de basilaire

Het perifere auditieve systeem vormt samen met de zenuwbanen naar en van de hersenen en de hersenen zelf ons volledige gehoorzintuig. De gehoorgang werkt als een akoestisch filter ('open orgelpijp') met een door zijn lengte bepaalde resonantiefrequentie rond 3000 Hz. Deze resonantie is niet scherp omdat de wanden van de gehoorgang niet hard zijn en de gang wordt afgesloten door een vrij slap dun membraan, het trommelmvies. De resonantie van de gehoorgang is een factor die bijdraagt tot het feit dat het menselijk oor het meest gevoelig is voor frequenties van enkele kHz.

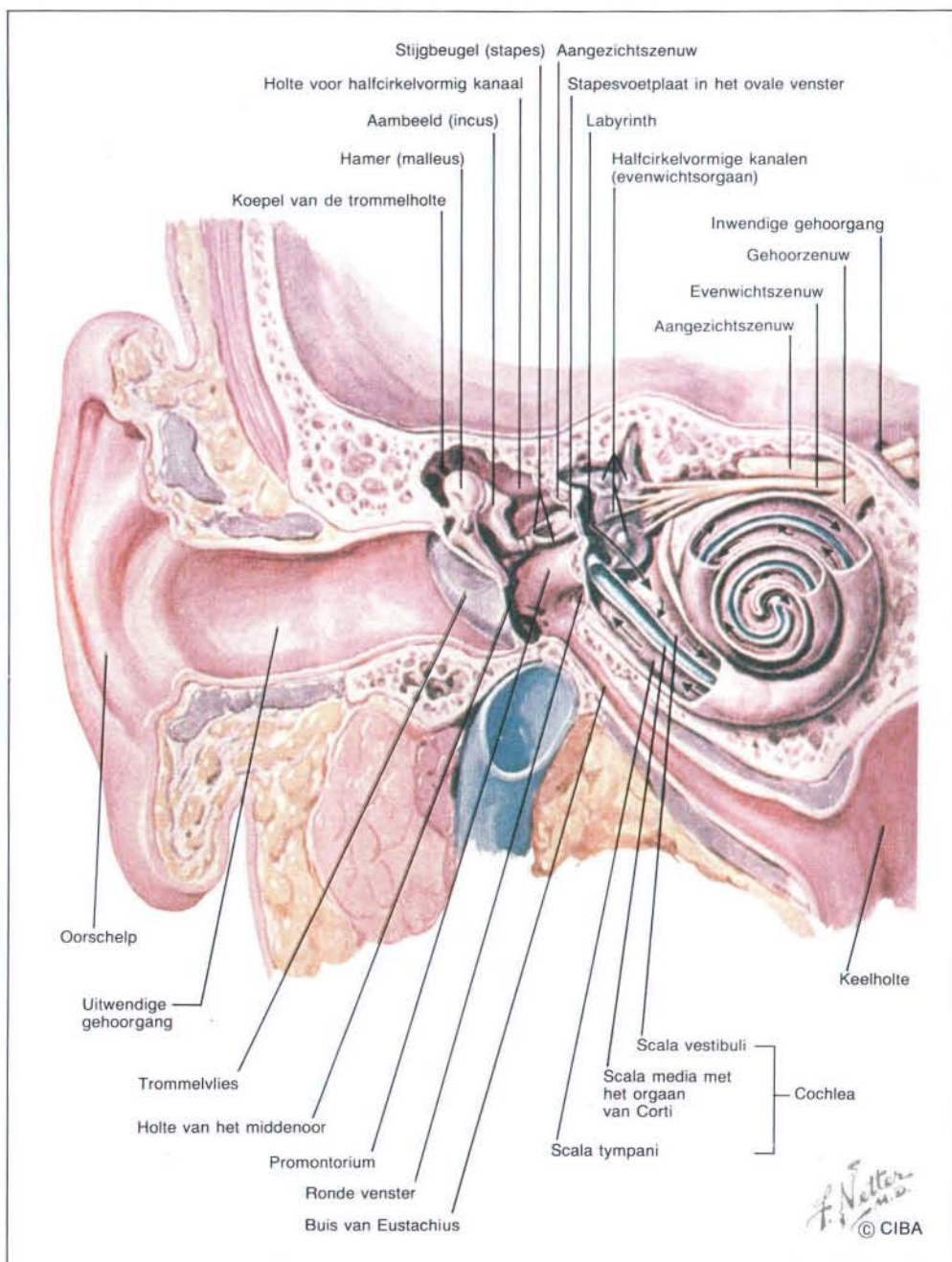
De belangrijkste functie van het middenoor is het overbruggen van het grote verschil in akoestische impedantie tussen de lucht en de vloeistof in de cochlea (die ongeveer een factor 4000 bedraagt).

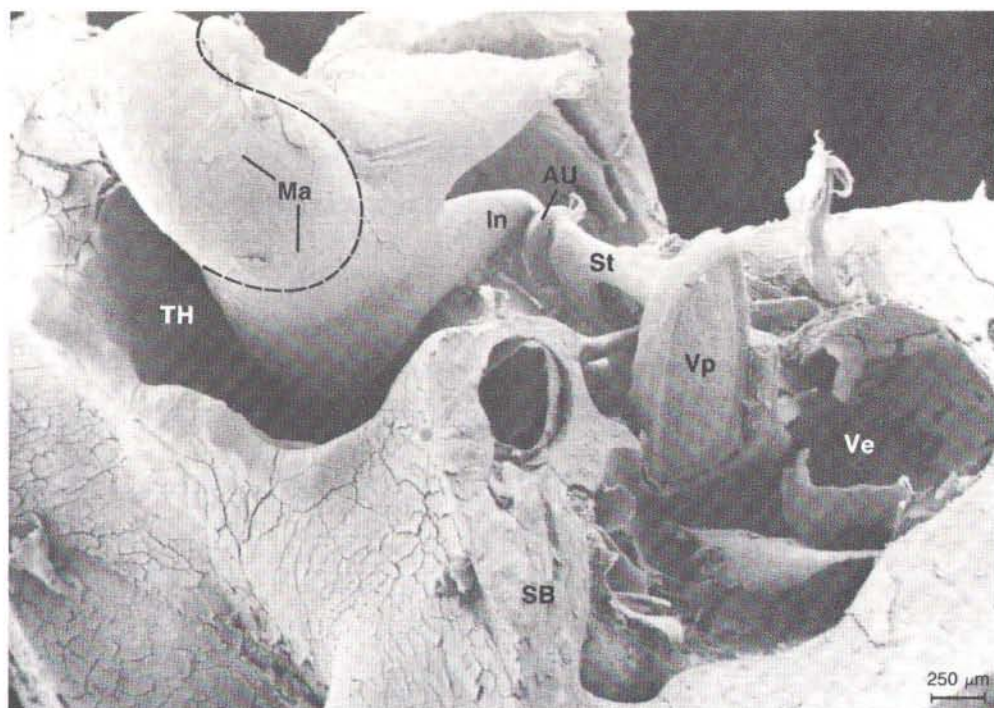
re membraan (MB) en de scala tympani (ST). In de scala media is nog de tectoriaal membraan (MT) te zien. De overige aanduidingen zijn: beenstuk rond de cochlea (OT en LSO), het ligamentum spirale (Li), het orgaan van Corti (OC), limbus spiralis (LS), vestibulum-lip (VL), de sulcus spiralis internus (Su), het ganglion spirale (GS), bundeldendrieten (Bu) en de tympaanum-lip (TL).



Onder: Op dit totaal-overzicht van het gehoororgaan is niet alleen de onderlinge rangschikking van de diverse onderdelen van het oor zichtbaar. Naast het gehoororgaan bevat het oor ook het evenwichtsorgaan, dat in het labirynth boven de cochlea te vinden is (© Ciba-Geigy Corporation, all rights reserved).

Rechts: Een elektronenmicroscopische opname van het middenoor toont de minuscule gehoorbeentjes die de geluidstrillingen vrijwel zonder vervorming van het trommelvlies op de cochlea overdragen. Hamer (malleus, Ma), aambeeld (incus, In) en stijgbeugel (stapes, St) zijn zichtbaar, evenals de voetplaat (Vp) van de stapes.





De (specifieke) akoestische impedantie z van een medium is het produkt van de soortelijke massa ρ van het medium en de voortplantings-snelheid c van geluid in dat medium: $z = \rho \cdot c$. Het grensvlak van de twee media met akoestische impedanties z_1 resp. z_2 weerkaatst een fractie

$$R = \left(\frac{z_1 - z_2}{z_1 + z_2} \right)^2$$

van de er (loodrecht) opvallende geluidsenergie. De akoestische impedantie van lucht (bij 30°C) bedraagt $4,1 \cdot 10^2$ rayls, die van water $1,5 \cdot 10^6$ rayls. Voor een grensvlak tussen lucht en water vinden we dus $R = 0,999$, d.w.z. dat slechts 0,1 procent van de geluidsenergie in de vloeistof doordringt.

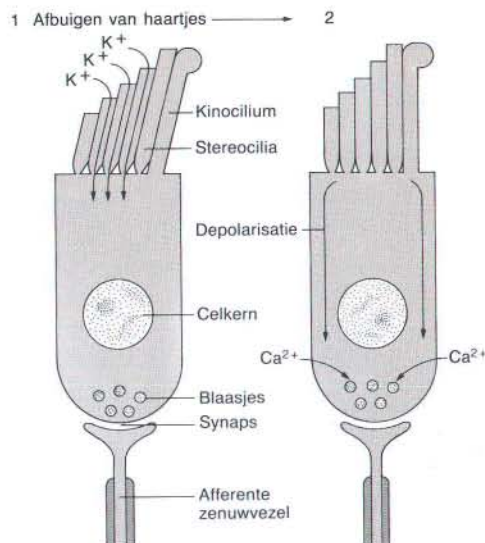
Deze impedantie-aanpassing vindt op drie manieren plaats. Ten eerste door hefboomwerking van de gehoorbeentjes. Ten tweede doordat het oppervlak van het trommelvlies veel groter is dan dat van de voetplaat van de stijgbeugel (stapes), die de vloeistof in trilling brengt. In de derde plaats draagt ook de kromming van het trommelvlies zelf bij tot een goe-

de impedantie-aanpassing, zoals recente metingen met behulp van een holografische methode hebben aangetoond.

Het spiraalvormig opgewonden binnenoor wordt door twee membranen, de membraan van Reissner en de basilaire membraan, over zijn gehele lengte in drie met vloeistof gevulde compartimenten verdeeld: de scala vestibuli, de scala tympani en de scala media. Wanneer via het ovale venster de vloeistof in de cochlea in trilling wordt gebracht zal ook de basilaire membraan met de daarop geplaatste zintuigcellen, de haarcellen, in trilling raken (zie fig. 1). Boven op deze haarcellen zijn, zoals de naam aangeeft, korte haren geplaatst. Verandering van de stand van deze haren ten opzichte van de haarcel door de beweging van de basilaire membraan, heeft verandering van de elektrische activiteit in de met de haarcel verbonden zenuwvezel tot gevolg.

Het is vooral voor de binnenste haarcellen nog een punt van discussie tussen onderzoekers of de haren ten opzichte van de haarcel bewegen, omdat ze aan de daarboven liggende tectoriaalmembraan vastzitten, of dat ze door

Fig. 1. Stimulatie van een haarcel veroorzaakt een elektrisch signaal, dat naar de hersenen wordt getransporteerd door de afferente zenuwvezel, die contact maakt met de onderkant van de haarcel. Door afbuiging van de haren worden ion-kanalen geopend (1). Hierdoor stromen kaliumionen de cel binnen en daalt het potentiaalverschil tussen de cel en de omringende vloeistof. Deze spanningsdaling of depolarisatie verspreidt zich snel door de hele cel (2). In het onderste gedeelte van de cel bevinden zich kanalen die selectief doorgankelijk zijn voor calciumionen. Door de depolarisatie worden deze kanalen geopend. Ook onder in de cel bevinden zich blaasjes, die gevuld zijn met een neurotransmitterstof. De calciumionen veroorzaken een samensmelten van deze blaasjes met de celwand (3). Hierbij komt transmitterstof vrij in de ruimte (synaps) tussen het uiteinde van de zenuw en de onderkant van de cel. Door de transmitterstof (waarvan de aard onbekend is) wordt de zenuwvezel geprikkeld. In de vezel wordt hierdoor een 'actiepotentiaal' opgewekt die naar de hersenen gaat (4).



de vloeistofstroom in de nauwe spleet tussen de de bovenkant van de haarcellen en dit membraan in beweging worden gebracht.

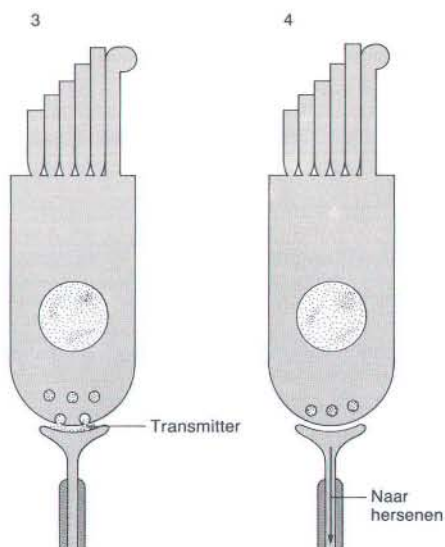
Bij de mens heeft de cochlea ongeveer 2,5 winding. De totale lengte van de basilaire membraan is ongeveer 35 mm. Deze membraan is niet overal even breed en stijf. Onder in de cochlea, bij het ovale venster, is deze membraan het smalst (0,1 mm) en het stijfst. Naar de top van de cochlea wordt de membraan steeds breder en slapper. Bovenin is de breedte ongeveer 0,5 mm. De membraan loopt niet helemaal tot in de top van de cochlea door. Er is daar een open verbinding tussen scala vestibuli en scala tympani, het *helicotrema*.

Omzetting van akoestische energie

Onderzoek aan op schaal nagemaakte en met vloeistof gevulde modellen, gecombineerd met trillingsmetingen aan cochlea's van mens en proefdier, hebben veel inzicht verschaft in het gecompliceerde trillingsproces dat in de cochlea plaatsvindt. Een weergave van de

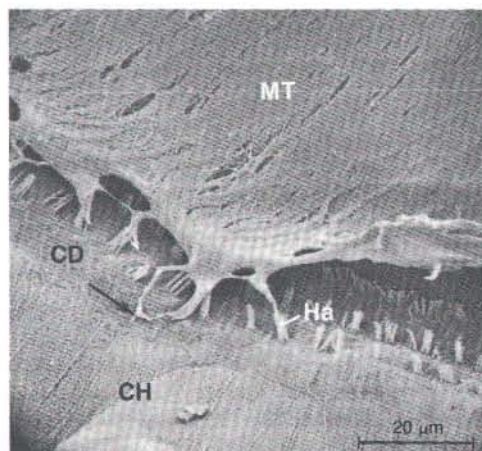
cochlea is te zien op pag. 848. Wanneer de voetplaat van de stapes in trilling wordt gebracht zal de vloeistof in de cochlea ook gaan trillen. Hierdoor ontstaat in de basilaire membraan een lopende golf, die van de stapes in de richting van het helicotrema gaat. De golf is enigszins vergelijkbaar met de lopende golf die in een verticaal opgehangen koord ontstaat, als dit bij het ophangpunt in trilling wordt gebracht.

De amplitude van de lopende golf in de cochlea neemt eerst in grootte toe, om op een bepaalde plaats een maximum te bereiken. Voorbij dit maximum neemt de golf zeer snel in amplitude af. De plaats waar de amplitude van de trilling maximaal is hangt af van de frequentie van de trilling. Bij lage trillingsfrequenties ligt het maximum in de buurt van het helicotrema. Naarmate de frequentie hoger wordt komt het maximum dicht bij de stapes te liggen. Elke frequentie komt dus overeen met een heel specifieke plaats op de basilaire membraan. Deze zogenaamde 'plaatstheorie' is vooral door de experimenten van Georg von Békésy (Nobelprijswinnaar 1961) bevestigd.



Onder: In deze elektronenmicroscopische opname zien we een bovenaanzicht van de tectoriaal membraan (MT), waaronder de haren van haarcellen zichtbaar zijn.

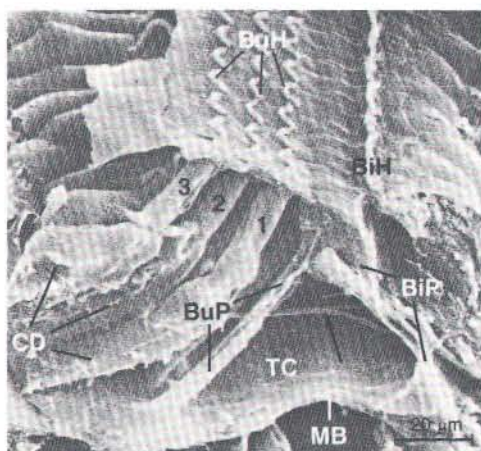
Rechtsonder: Verwijdering van de tectoriaal membraan laat zien dat het orgaan van Corti één binnenste (BiH) en drie buitenste haarcellen (BuH) bevat, waardoor in de lengterichting lange rijen haarcellen zichtbaar worden.



Uit elektronenmicroscopisch onderzoek, vooral verricht door de Oostenrijker Spöndlin, is veel inzicht verkregen in de structuur van de zenuwbanen van en naar de cochlea. Spöndlin deed zijn onderzoek aan de cochlea van de kat, maar omdat de cochlea's van de verschillende zoogdieren qua bouw erg op elkaar lijken, zijn de door hem verkregen resultaten representatief voor de menselijke cochlea.

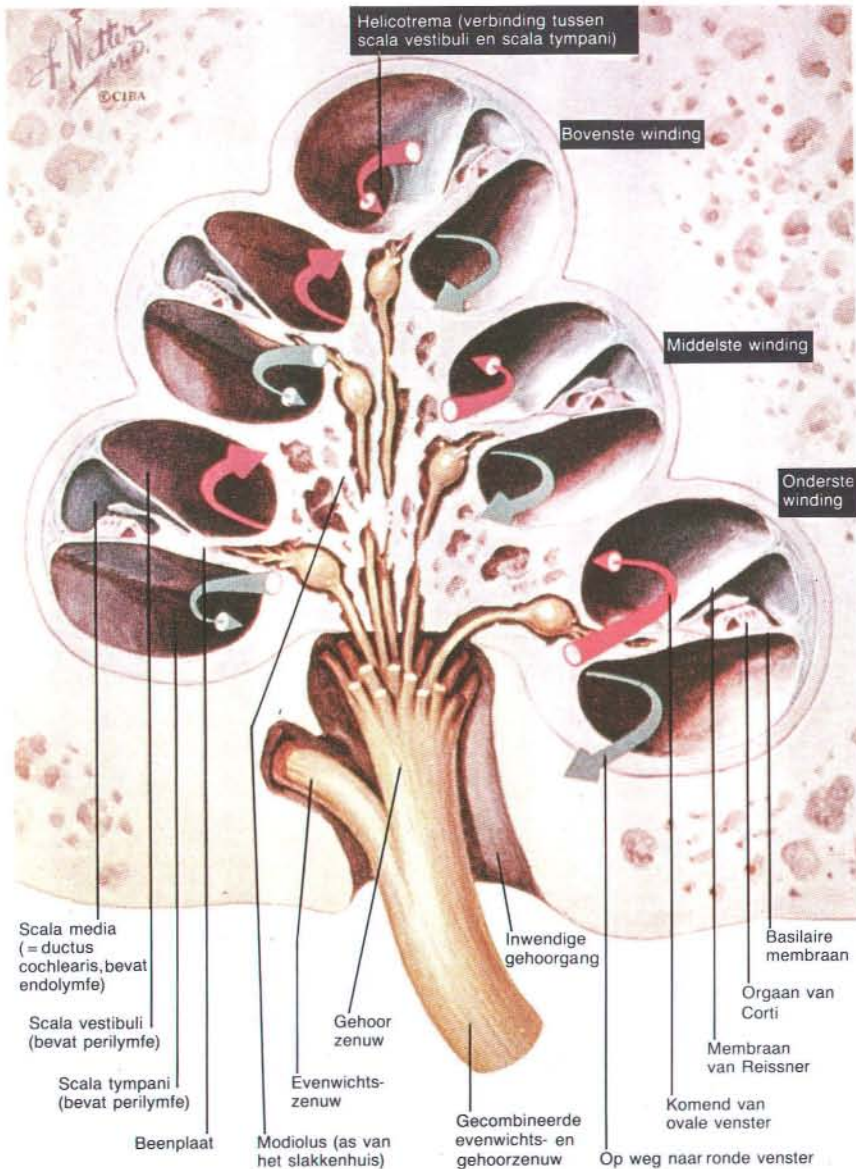
In de kat komen ongeveer 50000 zenuwvezels de cochlea binnen door kleine openingen in de basilaire membraan die *habenula perforata* heten. Ongeveer 5 procent van deze vezels zijn *efferent*, dat wil zeggen dat ze informatie toevoeren aan de cochlea (zoals een zenuwvezel die een prikkel transporteert naar een spier om deze te doen samentrekken). De exacte functie van de efferente zenuwvezels naar de cochlea is (nog) niet duidelijk. De resterende 95 procent van de zenuwvezels is *afferent*, dit betekent dat ze informatie vanuit de cochlea, via schakelelementen, naar de hersenen transporteren.

Vanuit de habenulaire openingen gezien, liggen de haarcellen in rijen, bestaande uit één binnenste haarcel en drie buitenste haarcellen. Langs het basilaire membraan zijn er ongeveer 2500 van zulke rijen (één binnenste plus drie buitenste haarcellen). De verhouding van het aantal afferente vezels dat verbonden is met de binnenste haarcellen en het aantal dat verbonden is met de buitenste haarcellen is nog niet precies bekend. Volgens Spöndlin is ongeveer 95 procent van de afferente vezels verbonden



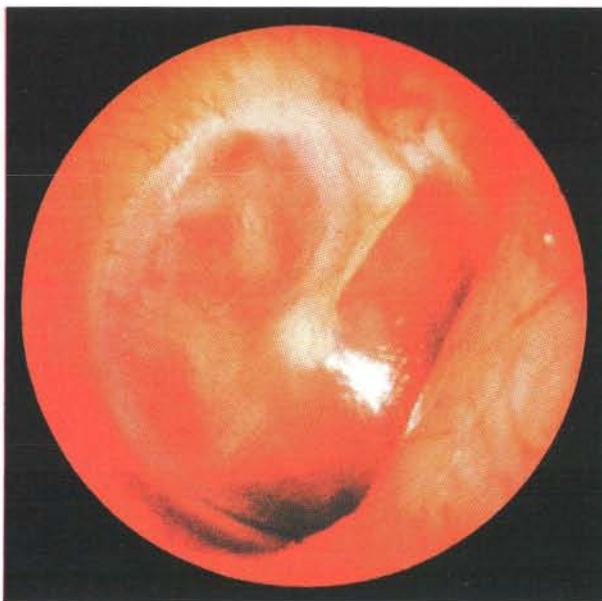
met de binnenste haarcellen. Dus elke binnenste haarcel is verbonden met ongeveer 20 afferente vezels. De rest van de afferente vezels is verbonden met de buitenste haarcellen.

Alle 50000 met de cochlea verbonden zenuwvezels komen tenslotte te zamen en verlaten deze als één bundel in de achtste hersenzenuw (nervus acusticus VIII).



Links: Deze schematische doorsnede van de cochlea laat de bewegingsrichting van de vloeistof zien, bij een inwaardse beweging van de stapesvoetplaat. Vanuit het ovale venster via de scala vestibuli naar het helicotrema, dat zich aan het uiteinde in de bovenste winding bevindt. Daarna via de scala tympani naar het ronde venster. (© Ciba-Geigy Corporation, all rights reserved).

Rechts: Een arts die met een lampje in de gehoorgang kijkt, kijkt tegen het trommelvlies aan. Door het trommelvlies schijnt de geknikte steel van de hamer. De lichte vlek links van de knik is het gewricht tussen aambeeld en stijgbeugel. De vlek aan het uiteinde van de hamer is een lichtreflectie; rechts daarvan zien we de wand van de gehoorgang.



De gevoeligheid van het oor

Enkele jaren geleden werd aan de TH Delft de trillingsamplitude van het trommelvlies van katten gemeten met een laserdoppler-snelheidsmeter. Door de grote gevoeligheid van de meetmethode was de trillingsamplitude nog meetbaar, wanneer het trommelvlies met vrij zwak geluid werd gestimuleerd. Uit deze metingen kon worden geconcludeerd dat de kat (en dus ook de mens met een vrijwel identiek gehoororgaan) nog geluid kan waarnemen als het trommelvlies trilt met een amplitude van 0,1 picometer ($= 10^{-13}$ meter); dit getal is 1000 keer zo klein als de 'diameter' van een waterstofatoom in de grondtoestand!

Een andere manier om de gevoeligheid van het oor te beschrijven, is het opgeven van de trillingsamplitude van de basilaire membraan bij de gehoordrempel (= geluidsterkte op de grens van de hoorbaarheid). Kort geleden is men er aan de Columbia University, New York, in geslaagd deze amplitude redelijk betrouwbaar te meten, weer met behulp van laserlicht. Dit laserlicht werd gereflecteerd door een minuscule goudkristal dat voorzichtig op de basilaire membraan van een kat was geplaatst. Daartoe was in de cochleawand een klein gaatje gemaakt. Uit de resultaten kan

worden afgeleid dat de haarcellen nog zullen reageren op verplaatsingen van het basilaire membraan van 1 picometer.

In het tijdschrift *Journal of the Acoustical Society of America* van februari 1984 plaatsen de onderzoekers (Khanna en Leonard) kanttekeningen bij hun eigen onderzoek. De door hen gevolgde methode biedt geen adequate weergave van de natuurlijke situatie. Door het openen van de cochlea, hoe voorzichtig dit ook werd gedaan, werden beschadigingen op microscopische schaal aangebracht.

Met het bovenstaande wordt goed geïllustreerd hoe moeilijk het is om door rechtstreekse metingen de werking van het uiterst ingenuus gebouwde en zeer kwetsbare binnenoor te begrijpen.

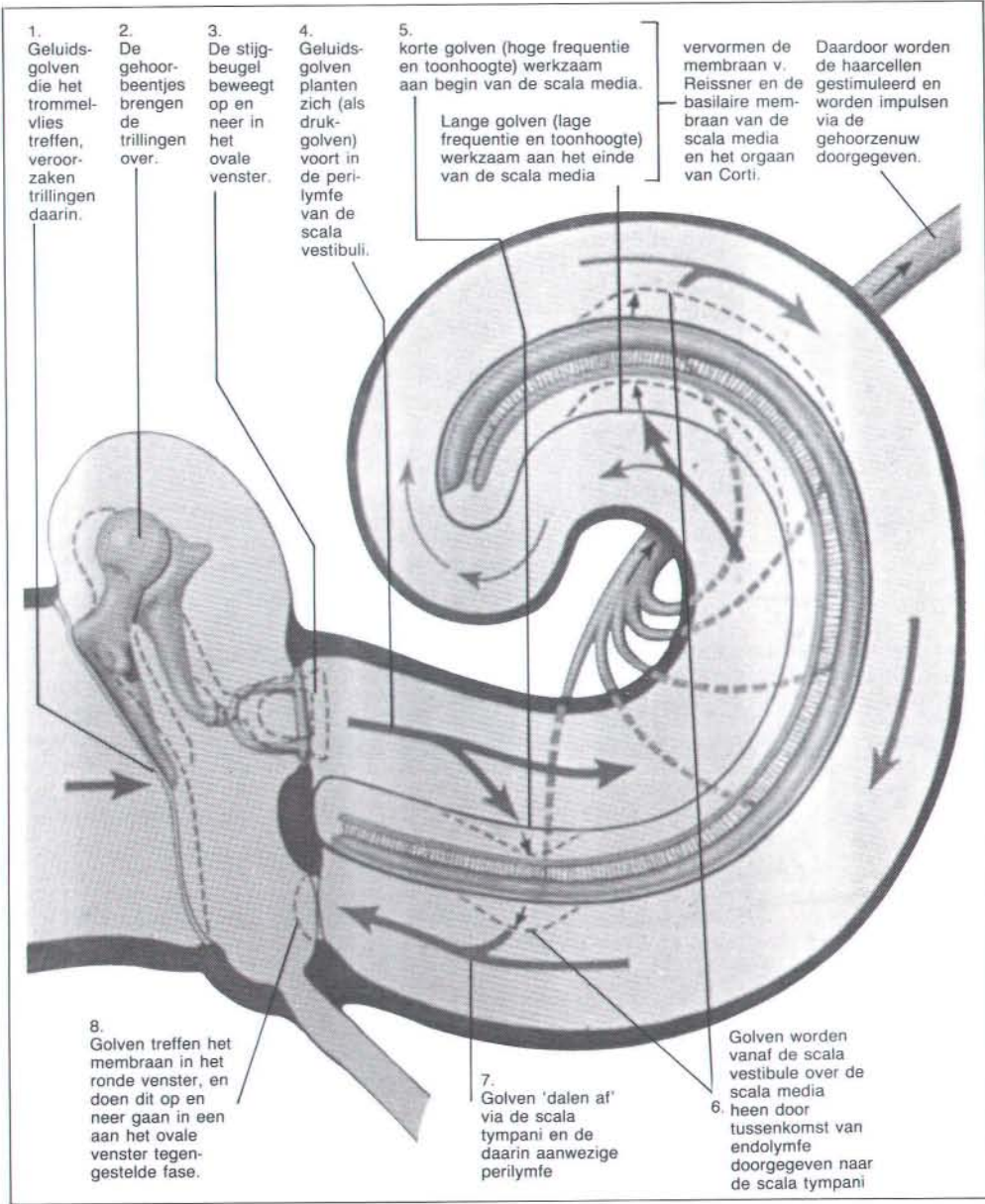
Het oor als geluidsbron

Ons oor is in staat om zeer kleine verschillen in toonhoogte waar te nemen. Op theoretische gronden kan worden beredeneerd dat een met vloeistof gevulde cochlea hiertoe niet in staat is, tenzij er zich miniatuurversterkertjes in bevinden om de frequentieselectiviteit te vergroten (zie fig. 2). Dit idee is al in 1948 voor het eerst geopperd door de Engelsman Gold. Hij voorspelde dat het menselijke oor geluid zou

uitzenden als sommige van deze versterkertjes door een te sterke terugkoppeling een permanente trilling zouden veroorzaken. We kunnen het oor wat dit betreft vergelijken met een ge-

luidsinstallatie tijdens een vergadering. Als de versterker te hard wordt aangezet wordt het door de luidspreker(s) geproduceerde geluid door de spreekmicrofoon weer opgevangen.

Onder: Dit schema biedt een samenvattend overzicht van de geluidswaarneming in de cochlea. (© Giga-Geigy Corporation, all rights reserved).



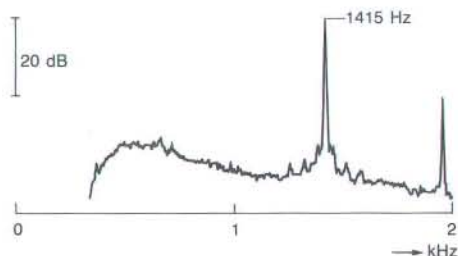
Het gevolg is een vreselijk gepiep: rondzingen.

Het door het oor uitgezonden geluid is echter zo zwak dat er zeer gevoelige apparatuur voor nodig is om het te meten. Pas in 1976 lukte het de Engelsman David Kemp in het Royal National Hospital in Londen voor het eerst. Vrij snel hierna werd ook in Groningen in het Audiologisch Centrum begonnen met dergelijke metingen (zie fig. 3).

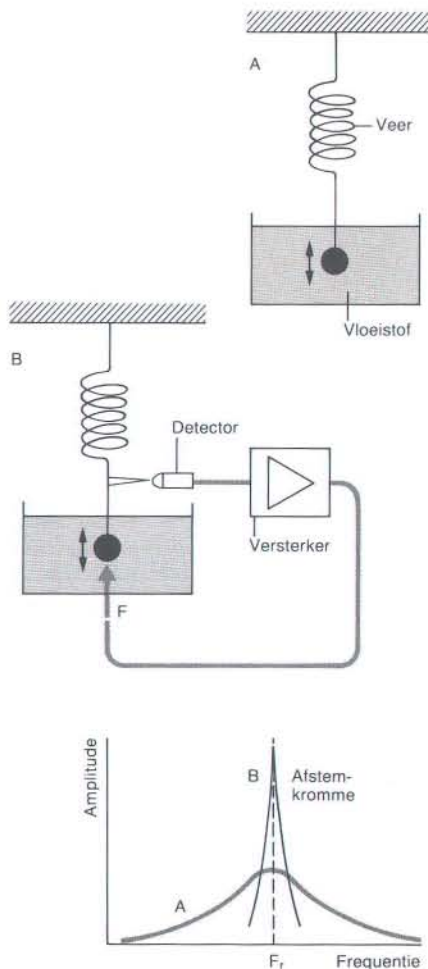
Hoewel verschillende instituten in de wereld zich nu met dit verschijnsel bezighouden, is het nog steeds niet duidelijk hoe de geluidjes precies worden geproduceerd. Wel is men het erover eens dat de haarcellen een belangrijke rol spelen bij de opwekking van dit geluid (cochleaire akoestische emissie) en dat bestudering van dit verschijnsel meer inzicht zal geven in de werking van het oor en misschien ook de grote gevoeligheid ervan zal kunnen verklaren.

Het verschijnsel is niet zeldzaam; het komt voor bij ongeveer de helft van alle mensen met een normaal gehoor. Het bestaat hieruit, dat het oor heel zwak één of een paar toontjes uitzendt. De persoon in kwestie hoort deze toontjes niet. Bij een beschadigd gehoor treedt het verschijnsel niet op.

Tussen dit verschijnsel en het 'oorsuizen' (medische term: tinnitus) bestaat geen verband. Dit oorsuizen treedt bij vrijwel iedereen wel eens op: we horen korte of langere tijd (sommige mensen zelfs continu) een gesuis of een fluittoon. Dit heeft waarschijnlijk te maken met een spontane activiteit van het gehoororgaan, die wel door de hersenen wordt waargenomen, maar die geen via de gehoorgang met een microfoon meetbaar geluid produceert.

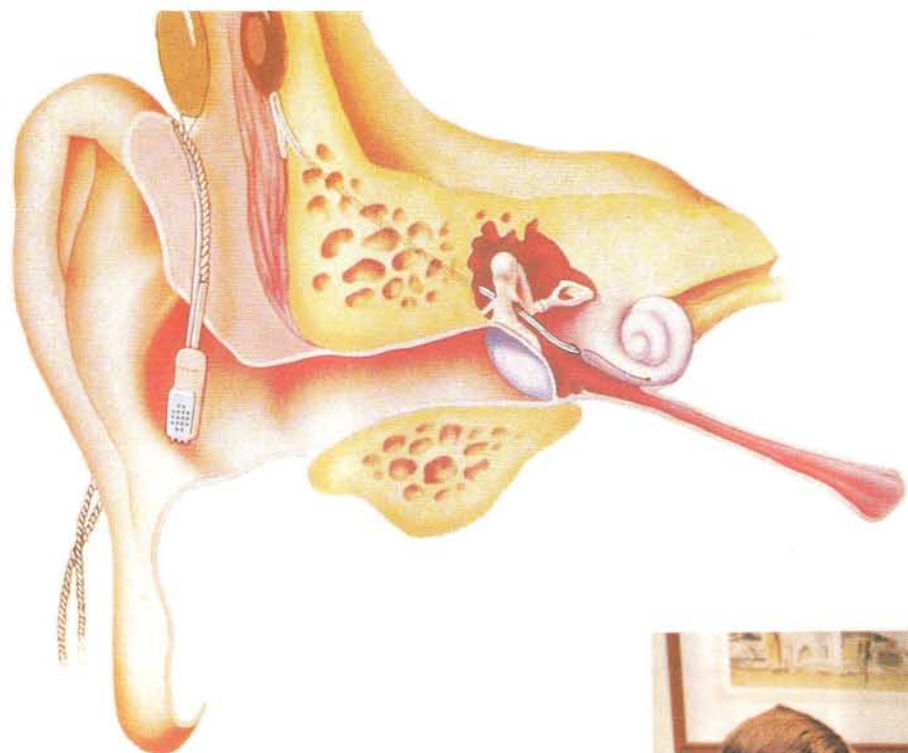


Boven: Fig. 3. Een frequentiespectrum van het met een gevoelige condensatormicrofoon opgenomen geluid in de gehoorgang van een normaalhorende proefpersoon. Duidelijk zijn twee pieken te zien, die aangeven dat het oor twee zuivere tonen uitzendt (cochleaire akoestische emissie).



Boven: Fig. 2. A. De resonantiefrequentie f_R wordt bepaald door de stijfheid van de veer en de massa van het bolletje. Door damping, die het bolletje in de vloeistof ondervindt, is de afstemkromme van de resonator vrij breed (geringe frequentieselectiviteit). B. De detector geeft een signaal af aan de versterker dat evenredig is met de uitwijking van het bolletje. Dit signaal produceert een kracht F die weer op het bolletje werkt (bijv. via een elektromagneet, als het bolletje van ijzer is). Als F de juiste fase heeft wordt de vloeistofdamping (gedeeltelijk) gecompenseerd. Het gevolg is een veel scherpere afstemkromme. Bij te sterke terugkoppeling blijft het bolletje permanent trillen.

sie). De geluidsdruk van het sterkste toontje (1415 Hz) in het door de microfoon afgesloten gehoorgang bedroeg ongeveer 200 μPa . Dit is ruwweg 20 dB boven de gehoordrempel voor die frequentie. Toch hoort de proefpersoon zijn eigen emissie niet.



Boven: Bij een 'cochlear implant' wordt het geluid opgevangen door een kleine microfoon in de uitwendige gehoorgang. Via een schakelkastje (niet zichtbaar) worden de gemoduleerde pulsen naar een spoel boven het oor gebracht. Door inductie gaat het signaal naar een spoel die in het slaapbeen is aangebracht en die via een elektrode met de cochlea is verbonden.

Een 'bionisch' oor?

In deze tijd van 'high-technology' lijkt het maken van een elektronisch kunstoor een haalbare zaak. Het idee dat achter zo'n kunstoor steekt is in wezen eenvoudig: vervang het kapotte binnenoor van een dove patiënt door een apparaatje dat aan de gehoorzenuw dezelfde informatie over geluid verstrekt (elektrische pulsjes) als een onbeschadigd binnenoor dat doet. Vooral door de snelle ontwikkelingen in de elektronica roept dat idee meteen hoge ver-



wachtingen op. De technici denken 'dit varkentje wel even te zullen wassen'. De computerfirma Honeywell heeft zelfs een prijs uitgelooft voor onderzoek met als onderwerp: Computerized Sensorial Aids for the Blind, Deaf and Dumb.

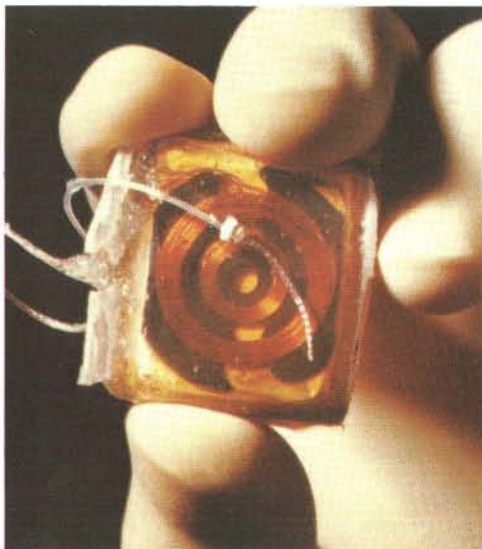
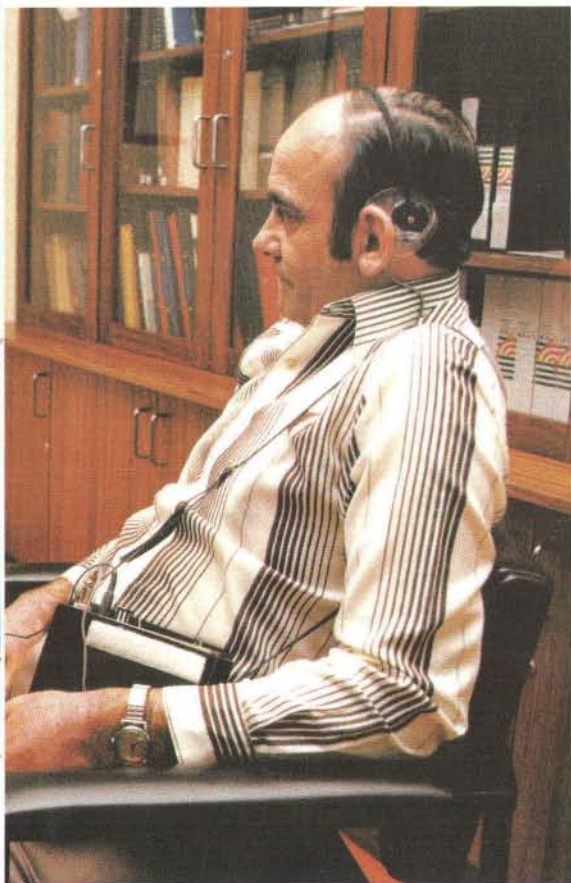
De beperkingen zitten echter niet in de techniek, maar in het feit dat ons oor zo ingenieus is geconstrueerd dat het, zelfs bij benadering, niet na te bootsen valt. Verder veronderstelt bovenstaand idee dat de gehoorzenuw volledig normaal is, ondanks het totaal niet meer functioneren van het binnenoor. Dit is meestal niet het geval.

In de Engelstalige literatuur heet het kunstoor 'cochlear implant', omdat er bij het aanbrengen van het kunstoor één of meer elektroden (dunne metaal draadjes) langs operatieve weg in het slakkenhuis worden gebracht. Door

deze elektroden worden dan elektrische signalen gevoerd, die worden geproduceerd door een op een hoorapparaat lijkend kastje.

Men onderscheidt monopolar implants, met één elektrode in de cochlea of tegen de buitenwand van de cochlea aan en multiple implants met meerdere elektroden. Bij de multiple implant is het record tot nu toe gevestigd door prof. Chouard in Frankrijk met twaalf elektroden. Als we bedenken dat onze gehoorzenuw ongeveer 50000 verschillende 'draadjes' (zenuwvezels) bevat, kunnen we ons voorstellen dat het aanbrengen van twaalf elektroden, waar een vrij zware operatie voor nodig is, slechts een druppel op een gloeiende plaat is.

Het elektrisch contact met de in de cochlea aangebrachte elektrode(n) kan op twee manieren gebeuren. Sommige patiënten krijgen een soort stopcontact achter het oor. In andere ge-



Links: Een van de eerste patiënten bij wie een 'cochlear implant' is ingebracht, is de Australiër Rod Saunders. Door een ongeluk raakte hij zijn gehoor kwijt. Dat maakte hem tot een bijna ideale proefpersoon. Voor zijn ongeluk kon hij goed horen, hij kon dus precies vertellen of de techniek voldeed. Op de foto wordt het systeem uitgetest. Zichtbaar is het kastje dat de geluidsimpulsen omzet in de signalen die naar de spoel gaan.

Boven: De foto toont de spoel die bij Saunders is ingebracht, met de dunne elektrode die in de cochlea geschoven wordt.



Boven: Deze katte-cochlea is met goud bedampt (voor elektronenmicroscopie). Door het ronde venster is een proef-elektrode geschoven. Een opening in de scala tympani laat zien dat de elektrode zich daarin bevindt. De elektrode is 10 mm lang en heeft een diameter van 0,6 mm. Vier iridiumdraadjes moeten de zenuwstructuren stimuleren.

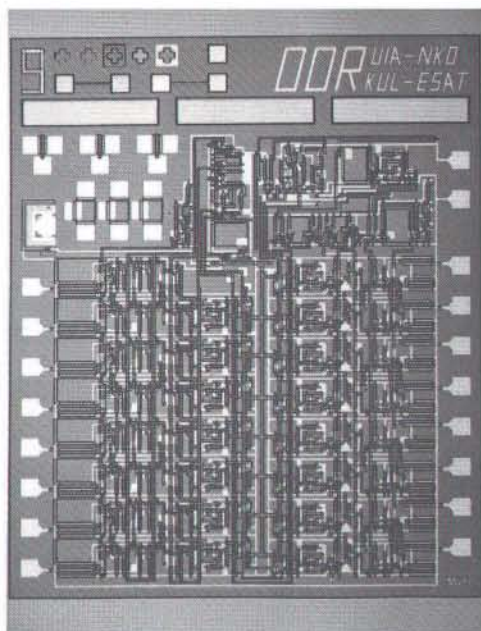
Rechts: Een afdruk van een katte-cochlea door inspuiten van een autopolymeriserende kunstharz door het ronde venster, ovale venster en een opening in het slakkenhuis.



vallen is onder de huid een spoel aangebracht die contact maakt met de elektroden. Achter het oor wordt (op de huid) een tweede spoel gehangen, die op de kast is aangesloten. Door inductie (transformatorwerking) wordt het signaal van de ene spoel naar de andere overgebracht. In het laboratorium van prof. Sansen, aan de Universiteit van Leuven is een geïntegreerde schakeling (chip) ontwikkeld, die tegelijk met acht elektrodenparen kan worden geïmplanteerd. Deze schakeling kan verschillende signalen naar de afzonderlijke elektroden sturen, terwijl er voor het contact naar buiten slechts drie draadjes nodig zijn. De afmetingen van de chip zijn 3 bij 2,5 mm. Onderzoek wordt gedaan in samenwerking met prof. Marquet uit Antwerpen.

Ondanks het feit dat via één elektrode slechts weinig informatie aan de gehoorzenuw kan worden toegevoerd, zijn de meeste patiënten die met een 'monopolar implant' zijn uitgerust daarover zeer tevreden. De extra informatie die door middel van elektrische pulsjes wordt toegediend is een goede ondersteuning bij het liplezen. Het onderzoek met de monopolaire implant richt zich nu vooral op het vinden van de meest nuttige informatie die via een enkele elektrode kan worden toegediend.

Het doel dat veel onderzoekers zich stellen is de dove patiënt de mogelijkheid tot spraakverstaan terug te geven (zonder liplezen!). Daarom probeert men ook zoveel mogelijk elektroden in de cochlea aan te brengen. De resultaten met dergelijke 'multiple implants' zijn



Boven: De in Leuven ontwikkelde chip voor een 'cochlear implant' is in werkelijkheid 2,5 x 3 mm klein. Met deze schakeling kunnen verschillende signalen naar afzonderlijke elektroden van een 'multiple implant' gestuurd worden. Hierdoor wordt een gedifferentieerde prikkeling van zenuwvezels mogelijk.

echter tot nu toe weinig hoopgevend. (Hoewel berichten in de pers wel eens anders willen doen geloven).

De laatste tijd komt er ook wat meer fundamenteel onderzoek op gang, waarin men probeert te begrijpen wat nu precies de uitwerking is op de gehoorzenuw van via veel elektroden toegediende signalen. In zulk onderzoek worden proefdieren uitgerust met kunststoren en wordt (onder narcose) de elektrische activiteit in de gehoorzenuw gemeten met micro-elektroden. Dit werk gebeurt o.a. in het Fysiologisch Laboratorium van prof. Klinke in Frankfurt.

De uitkomst ervan, tot nu toe, is dat via meerdere elektroden niet veel meer informatie aan de gehoorzenuw kan worden toegediend

dan via een enkele elektrode. Dit verklaart waarom de resultaten bij patiënten met de multiple implant niet veel beter zijn dan met een monopolar implant. Een van de redenen is dat de cochlea is gevuld met een vloeistof die elektrische stroom goed geleidt (perilymfe). Een stroompulsje dat via één bepaalde elektrode aan de cochlea wordt toegediend zal zich meteen door deze vloeistof verplaatsen en vrijwel alle in de cochlea aanwezige uiteinden van de gehoorzenuw prikkelen. Het prikkelen van een beperkt aantal vezels is dus moeilijk en dat is nu juist wat in een normaal oor wel gebeurt. In een normaal oor wordt het binnenkomende geluid in de cochlea ontleed. De verschillende erin aanwezige frequenties prikkelen verschillende vezels in de gehoorzenuw. Men zoekt daarom nu naar elektrodevormen waarmee de cochlea plaatselijk kan worden gestimuleerd, zonder dat verderop gelegen zenuwvezels worden geprikkeld.

Gezien de grote lacunes in ons begrip van de werking van het oor en de uitermate gecompliceerde bouw van dit orgaan, ligt het niet in de lijn der verwachting dat dove mensen in de toekomst langs kunstmatige weg hun gehoor volledig terug kunnen krijgen. Het beperkte scala aan signalen dat op deze wijze wel verwerkt kan worden, biedt hen echter extra informatie, die niet alleen steun is bij het lip-lezen, maar ook weer 'geluidscontact' met de omgeving geeft, wat voor de dove patiënt zeer belangrijk is.

Bronvermelding illustraties

Rijksuniversiteit Groningen, afd. Medische Elektronen-microscopie: pag. 838-839.

Uit: R.G. Kessel en R.H. Kardon, *Cellen, Weefsels en Organen*. Centr. Uitg. Maastricht, 1983: pag. 841 (onder, 843, 845).

GIBA-GEIGY Corporation, Arnhem: pag. 842, 846, 848. Ear Research Institute, Los Angeles: pag. 850 (boven).

University of Melbourne, East-Melbourne: pag. 850-851.

Dr. Th. Somers, Universitaire Instelling Antwerpen: pag. 852.

K.U. Leuven, afdeling Elektrotechniek: pag. 853.

De overige illustraties zijn afkomstig van de auteur, met fotografische assistentie van Meindert Goslinga.

G. den Boef

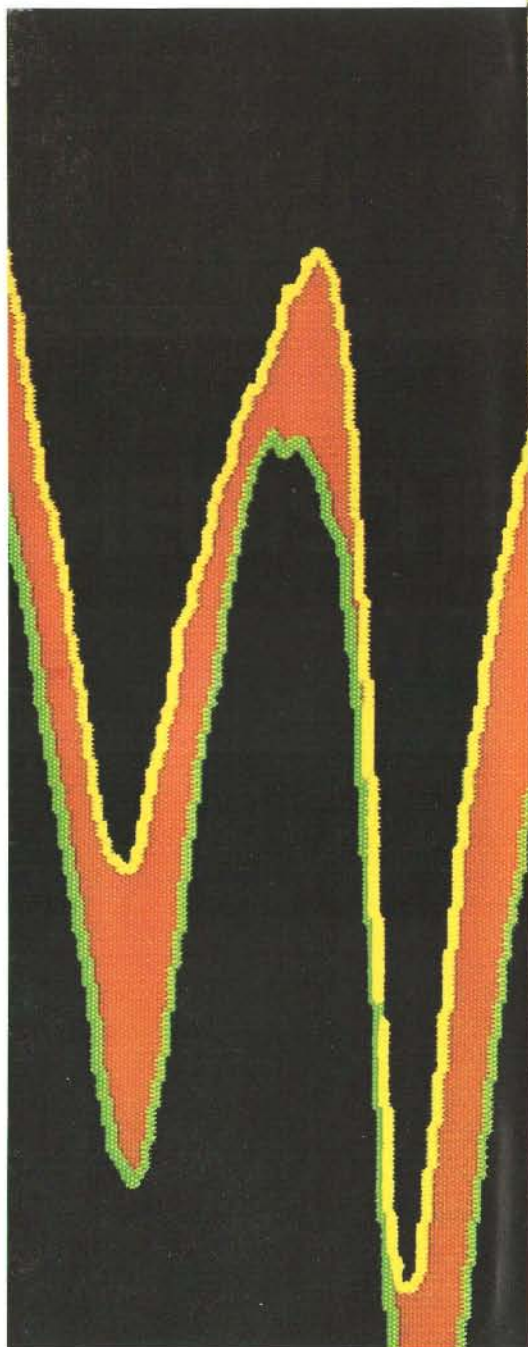
*Laboratorium voor Analytische Scheikunde
Universiteit van Amsterdam*

In vogelvlucht

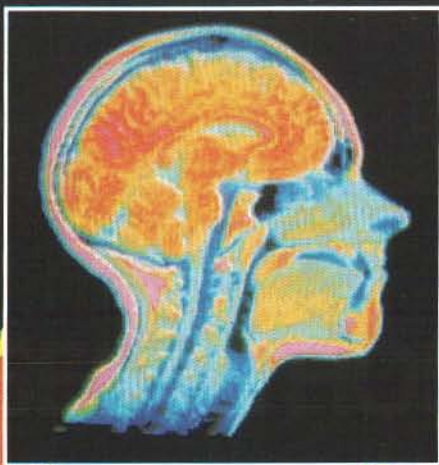
In onze geïndustrialiseerde en technisch hoog ontwikkelde samenleving speelt de controle van de samenstelling van materialen en andere stoffen van zeer uiteenlopende aard een zeer belangrijke rol. De producent wil bijvoorbeeld weten of zijn grondstoffen de gewenste samenstelling hebben; hij controleert gedurende de verschillende fasen van het productieproces of alles naar wens verloopt en tenslotte of zijn produkt aan de gestelde eisen voldoet. In dit laatste vooral is ook de koper (consument) sterk geïnteresseerd. De bevolking en allerlei (overheids)-instanties maken zich zorgen over de gevolgen van industriële ontwikkelingen op het leefklimaat, zoals verontreiniging van lucht, water en bodem.

In de medische wereld maakt men in toenemende mate gebruik van de steeds grotere mogelijkheden die de analytische chemie biedt als hulpmiddel bij de diagnostiek en bij andere medische verrichtingen (dopingcontrole, blaaspijpjes, bloedproeven, e.d.).

In deze wereld van kwaliteitsbewaking ten behoeve van vele facetten in de samenleving speelt de analytisch chemicus een voorname rol.



ANALYSEMETHODEN



De resultaten van een chemische analyse kunnen zichtbaar gemaakt worden op een beeldscherm, zoals hier bijv. dit spectrum. Op de inzet een doorsnede-foto van het hoofd, gemaakt met behulp van de NMR-methode ('kernspintomogram').

Inleiding

In de analytische scheikunde houdt men zich bezig met het verkrijgen van kwalitatieve en kwantitatieve informatie van monsters van de meest uiteenlopende samenstelling. Dat betekent dat analytici zich zowel bezighouden met het verkrijgen van die informatie als zodanig, als met de bestudering van alle verschijnselen en technieken die zich bij de oplossing van een analytisch probleem kunnen of zullen voordoen.

Het is daarom allereerst nuttig stil te staan bij de verschillende stappen die zich bij de oplossing van een analytisch probleem voordoen. De stap waarmee behoort te worden begonnen is de definiëring van het analytisch probleem.

Het analytisch probleem

De formulering van de vraagstelling dient te geschieden door de analyticus en de opdrachtgever (vraagsteller, cliënt) te zamen. Daarbij zal een veelheid van punten de revue passeren, zoals:

- Welke informatie is gewenst? Wenst men bijv. alleen maar te weten *wat* het calciumgehalte is van bloed of wil men ook nog weten *hoe* dat calcium in bloed aanwezig is, bijv. als vrije ionen of gebonden aan eiwitten (men noemt dit *speciatie*). Soms ook is men bijv. bij de analyse van vaste katalysatoren niet zozeer geïnteresseerd in het gehele monster maar slechts in de samenstelling van het oppervlak. Bij de analyse van verontreinigingen in water kan het weer van belang zijn te weten welk deel van die verontreinigingen is opgelost en dan ook weer in welke vorm (opnieuw speciatie) en welk deel zich in het slib bevindt of in bepaalde organismen;

- Wat is de aard van het monster? Zo zal de bepaling van zware metalen niet alleen verschillen van metaal tot metaal, maar ook van monster tot monster. Het maakt veel verschil of men een dergelijke bepaling moet doen in compost, bloed, afvalwater van een industrie of zeewater. De opdrachtgever dient zoveel mogelijk informatie over het monster te verschaffen;

- Hoeveel van het monster is beschikbaar? Zijn dit tientallen tonnen of enkele milligrammen?

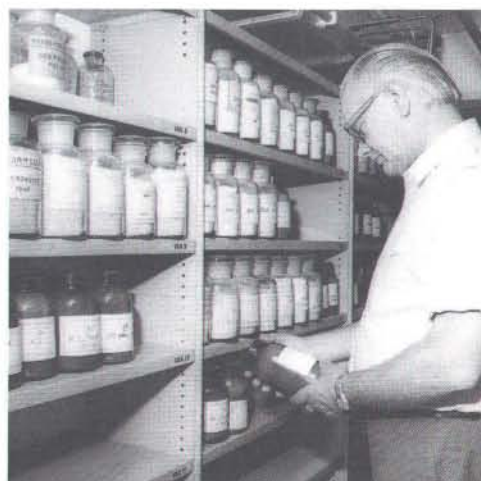
- Welke fout in het eindresultaat is toelaatbaar? Mag dit enkele procenten of slechts één promille zijn? Dit is ook van belang voor de kosten die een bepaald onderzoek volgens een bepaalde methode vergen.

- Gaat het om één afzonderlijke bepaling of zijn in de toekomst meer van dergelijke monsters te verwachten, of gaat het zelfs om grote aantallen per dag?

- Hoe snel moet de informatie beschikbaar zijn? Zo is het bij de controle van productieprocessen soms nodig dat resultaten binnen een tiental seconden kunnen worden gerapporteerd teneinde zondig in het proces te kunnen ingrijpen (staalfabriek).

- Wat mogen de kosten zijn?

Teneinde de voor de oplossing van het probleem meest wenselijke weg te kunnen kiezen zal de analytisch chemicus een all-round vakman moeten zijn die de merites van de beschikbare methodes goed ten opzichte van elkaar kan afwegen. Deze afweging leidt tenslotte tot de keuze van de bepalingsmethode.



Boven: Fabrieken hebben een monster-archief zoals hier van kunstmest. In zo'n archief wordt een representatieve selectie bewaard van alle producten door de jaren heen.

Rechts: Zowel voor als na de productie neemt men steekproefsgewijze monsters van resp. grondstoffen of gereede producten. Hier wordt een vloeistofmonster uit een tankauto genomen met een steekhevel.

De bepaling

De analytische bepaling begint met de monsternamen en eindigt met de presentatie van de resultaten. De verschillende stappen die bij een bepaling kunnen worden onderscheiden zijn: monsternamen, monstervoorbereiding, de voor de gekozen methode noodzakelijke chemische reacties, fysische processen en scheidingen, meting, verwerking van de meetresultaten (data-handling), statistische evaluatie en presentatie van de resultaten.

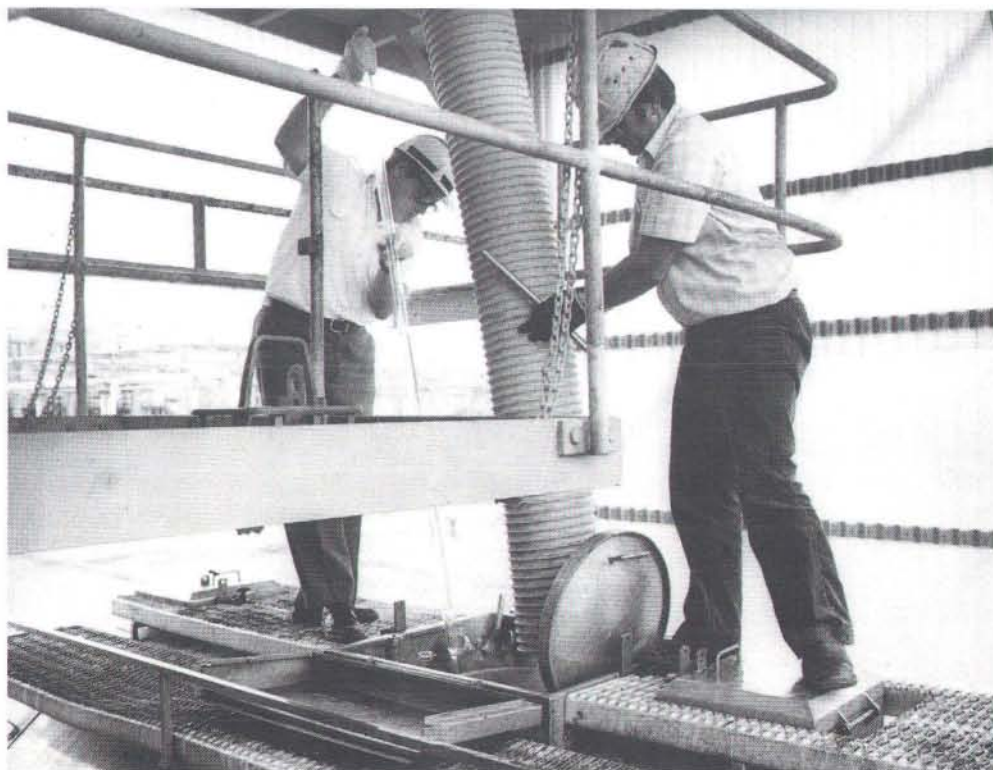
Niet altijd zal elk van deze stappen nodig zijn. Zo wordt bij de instrumentele activeeringsanalyse het monster bestraald in een kernreactor en wordt al dan niet na een wachttijd direct de meting van de radioactiviteit uitgevoerd, zonder dat een verdere bewerking nodig is. Ook bij de titreeranalyse ontbreekt meestal de scheiding.

Heel vaak echter heeft men met alle genoemde stappen te maken. Elke stap brengt zijn eigen problemen mee, beïnvloedt op zijn

eigen wijze de uitkomst van de bepaling en kan dus de zwakste schakel in de keten zijn. Pogingen ter verbetering van een bepaling dient men dus te richten op de zwakke punten.

Niet alle analytisch chemici zijn op de zo juist beschreven wijze bezig. Een deel van hen werkt aan de fundamentele ontwikkeling van één van de vele analytische methodieken. Toch is het ook voor deze categorie noodzakelijk zich doorlopend voor ogen te houden wat de plaats is van hun eigen specialisme in het totaal van de analytische chemie, om te voorkomen dat veel moeite en wellicht ook geld wordt gestoken in het oplossen van een analytisch probleem binnen het eigen specialisme, terwijl men dit probleem langs andere weg op een veel eenvoudiger wijze de baas kan worden.

Het grootste deel van de analytici, men denke aan die in de bedrijfslaboratoria, de keuringsdiensten van waren, de milieulaboratoria (water, lucht, bodem) en aan de klinisch chemici, zal echter steeds met de gehele analytische problematiek worden geconfronteerd.



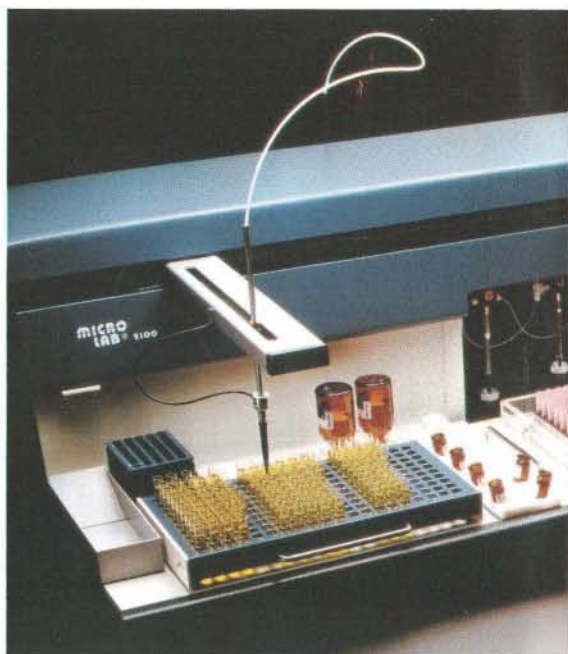
Derhalve moet, hoewel specialisatie in bepaalde methodieken onvermijdelijk is, elke analytisch chemicus een redelijk overzicht over het gehele vak hebben.

In de serie artikelen over de analytische chemie welke komende tijd gepubliceerd zullen worden, zullen bijdragen verschijnen over de verschillende methodieken die in de analytische chemie worden toegepast. De indeling van deze methodieken heeft te maken met de verschillende manieren om bij een analytische bepaling de *meting* uit te voeren, maar ook met de fysische en chemische *processen* en de *scheidingen* die aan die meting vooraf gaan. Bij elk artikel zullen de andere al genoemde stappen slechts ter sprake komen wanneer dit noodzakelijk is.

Daarom zullen in dit inleidend artikel enkele algemene opmerkingen worden gemaakt met betrekking tot die 'andere stappen'. Enige van deze aspecten van algemene aard zullen in het artikel over chemometrie diepgaander worden behandeld.

De monstername

Alle moeite om een goede analytische bepaling te doen zal vergeefs zijn als het genomen monster niet representatief is voor het materiaal waarvan de samenstelling moet worden bepaald. De monstername kan een buitengewoon lastig probleem zijn. Als bijvoorbeeld van een scheepslading erts de samenstelling

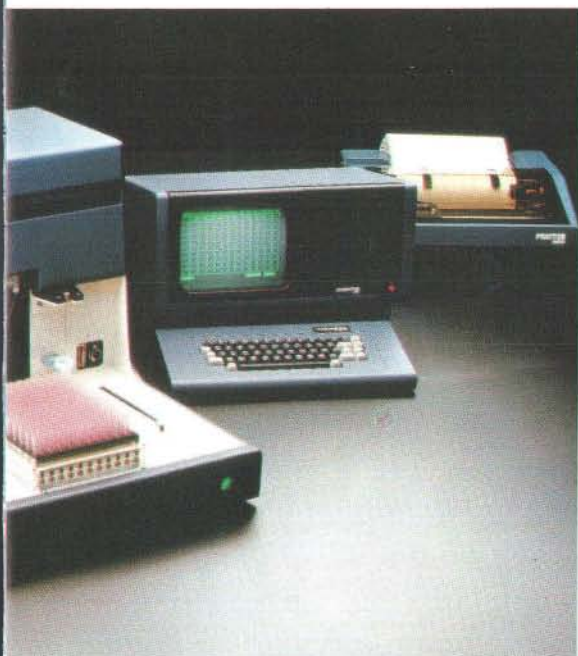


Boven: Voor routineklussen en grote aantallen analyses heeft men automatische systemen ontwikkeld, die de monstername en de analyse geheel automatisch doen. De resultaten komen op beeldscherm of op de printer.

Rechtsboven: Met deze 'doos' kan men snel monsters voorbereiden voor een bepaalde analysemethode. Hij wordt gebruikt in de petrochemie, voedselindustrie, milieubewaking, cosmetische en farmaceutische industrie en de klinisch-biologische analyse.

TABEL 1. Monstername van landbouwprodukten.

Grote fruitbomen	Neem groot monster van 50 kg, door van iedere boom bij kleine boomgaard te nemen of van tenminste 16 stuks bij een grote. Neem van alle kwartieren van iedere boom aan de binnen- en buitenkant waarbij het fruit naar gelang de grootte en aantal daarvan geselecteerd wordt. Breng het monster terug tot 12 kg door mengen en onderverdeling. Deel iedere vrucht doormidden, meng en onderverdeel verder tot een monster van 3 kg is verkregen. Verdeel in drie gelijke delen en vries in. Vruchten die vers en geheel gegeten worden, moeten met schil geanalyseerd worden. Vruchten die gepeld en verwerkt worden, moeten gepeld worden door de onderverdeling.
Voedingsorganen	Verzamel 12 kg monster uit de oogstmachine, verdeeld over het gehele reservoir. Combineer en verdeel. Graan wordt bemonsterd door 5-6 droge aren van elke van de 24 plekken in het veld; de omhulsels worden verwijderd en de korrels eruit gehaald.



moet worden bepaald, zal men zich allereerst dienen te realiseren dat het materiaal meestal niet homogeen is. Het stof en het gruis kunnen een andere samenstelling hebben dan de grotere stukken. De grotere stukken zijn zelf niet altijd homogeen en verschillen vaak ook onderling. In een dergelijk geval wordt de monstername een uiterst moeilijk probleem dat slechts kan worden opgelost door gebruik te maken van statistische methoden.

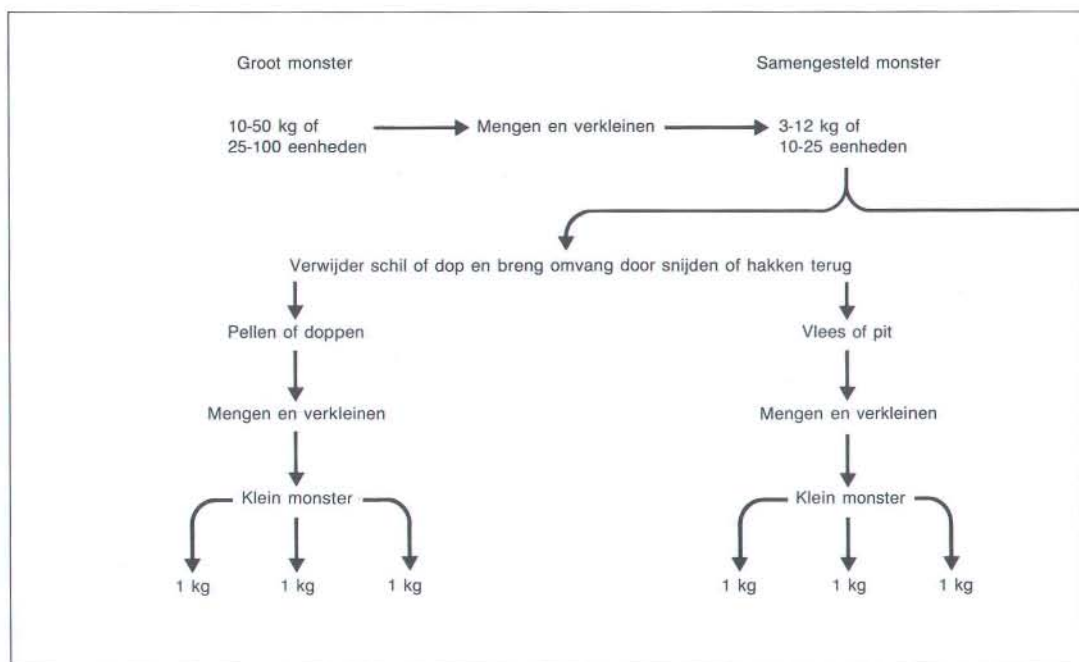
Hierop gaan we niet verder in. Het komt erop neer dat des te representatiever het monster dient te zijn des te zorgvuldiger en dus kostbaarder de monsternamen zal wezen. Bij zeer inhomogene monsters zal men eerst een zeer groot monster nemen dat een massa van wel meer dan 1000 kg kan hebben en derhalve nog niet geschikt is voor een verdere analytische bepaling (zie fig. 1). Uit dit grote monster wordt via slijpen, malen en homogeniseren in een aantal stappen een hoeveelheid materiaal verkregen, geschikt voor verdere analyse.

Ook als het monster wel homogeen is dient men zorgvuldig te werk te gaan. Zo kan men bloed beschouwen als een materiaal dat zo homogeen is, dat 1 ml bloed wel representatief mag worden geacht. Men zal echter bij intro-

ductie van een injectienaald erop bedacht moeten zijn, dat materiaal van de injectienaald in het monster terecht komt. Dit zal bij gebruik van een stalen naald van belang zijn als men ijzer wil bepalen, maar natuurlijk niet voor natrium of kalium. Bij bepaling van het adrenalinegehalte in bloed moet men erop bedacht zijn, dat de schrik bij het inbrengen van de naald dit gehalte zeer sterk kan doen stijgen.

Tot de monsternamen kan men ook de opslag of wel het bewaren van het monster rekenen. Niet altijd namelijk kan het getrokken monster direct worden verwerkt en men moet zich dan afvragen of er tijdens de opslag in het monster veranderingen kunnen optreden. Deze veranderingen kunnen dramatisch zijn, in het bijzonder bij de sporenanalyse. Soms komt het voor dat in een monster met 10^{-7} mol metaal per liter het metaal binnen korte tijd aan de wand van het glazen vat is geadsorbeerd en uit de oplossing is verdwenen.

Ook is het mogelijk dat een monster van biologische herkomst buiten zijn natuurlijke omgeving in korte tijd sterke veranderingen ondergaat, die men soms kan ondervangen door het monster in te vriezen en bij zeer lage temperatuur te bewaren.



Monstervoorbereiding

Het getrokken monster is in de meeste gevallen nog niet in de vorm die nodig is voor de verdere bepaling. Bij vaste monsters is verkleining van de deeltjesgrootte heel vaak nodig. Men moet erop bedacht zijn dat daarbij contaminatie (verontreiniging) van het monster kan optreden. Het is van het doel van de bepaling afhankelijk of dit bezwaarlijk is. Zo zal bij gebruik van stalen apparatuur voor de verkleining van de deeltjesgrootte (molens, stalen mortier en vijzel) verontreiniging met ijzer tot vele ppm (parts per million = aantal deeltjes op miljoen deeltjes van de bulk) in het monster onvermijdelijk zijn. Bij gebruik van een agaat-mortier zal men met SiO_2 -contaminatie rekening moeten houden.

Daarnaast zijn er vele andere monstervoorbereidingsoperaties, elk met eigen risico's. Een paar voorbeelden zijn: drogen van het monster met risico van verdamping of ontleding van te bepalen bestanddelen; oplossen van het monster met mogelijke verliezen, in het bijzonder bij de ontsluiting van moeilijk op te lossen materialen door samensmelting bij hogere temperatuur met bepaalde chemicaliën.

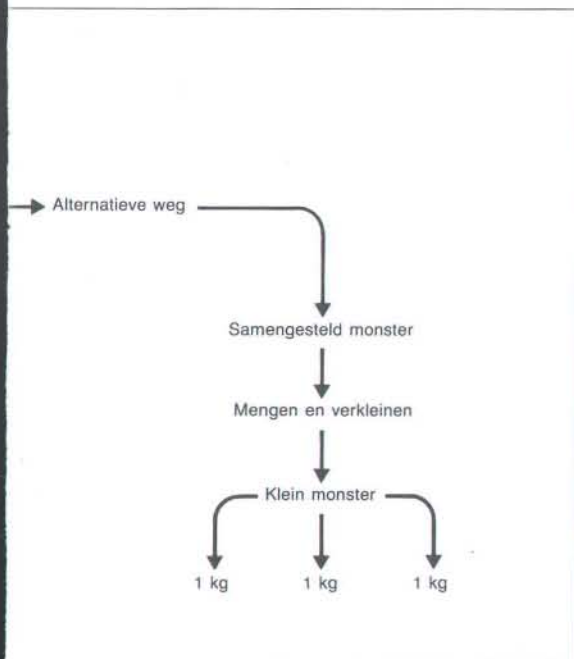
Reacties, processen, scheiding en meting

Deze stappen in een analytische bepaling worden bijeen genomen omdat we hiermede het terrein betreden van de verschillende specialisten die we in de analytische chemie onderscheiden. Aan de verschillende specialisten zal in de komende bijdragen in detail aandacht worden besteed. Derhalve wordt hier volstaan met een korte aanduiding van de specialisten en een onderverdeling in een aantal groepen.

Spectrometrie

Op een enkele uitzondering na (de massaspectrometrie) berusten de spectrometrische methoden op de wisselwerking van elektromagnetische straling met materie. Materie in de zin van moleculen, atomen en ionen in vaste vorm (waaronder kristalroosters), opgeloste of vloeibare toestand en in de gasvorm.

Een zeer groot deel van het elektromagnetische spectrum komt daarvoor in aanmerking (zie fig. 2). De wisselwerking berust op de interactie tussen de energiekwanta waarin elektromagnetische straling wordt aangeboden, namelijk fotonen met een energie $h\nu$ (h is de



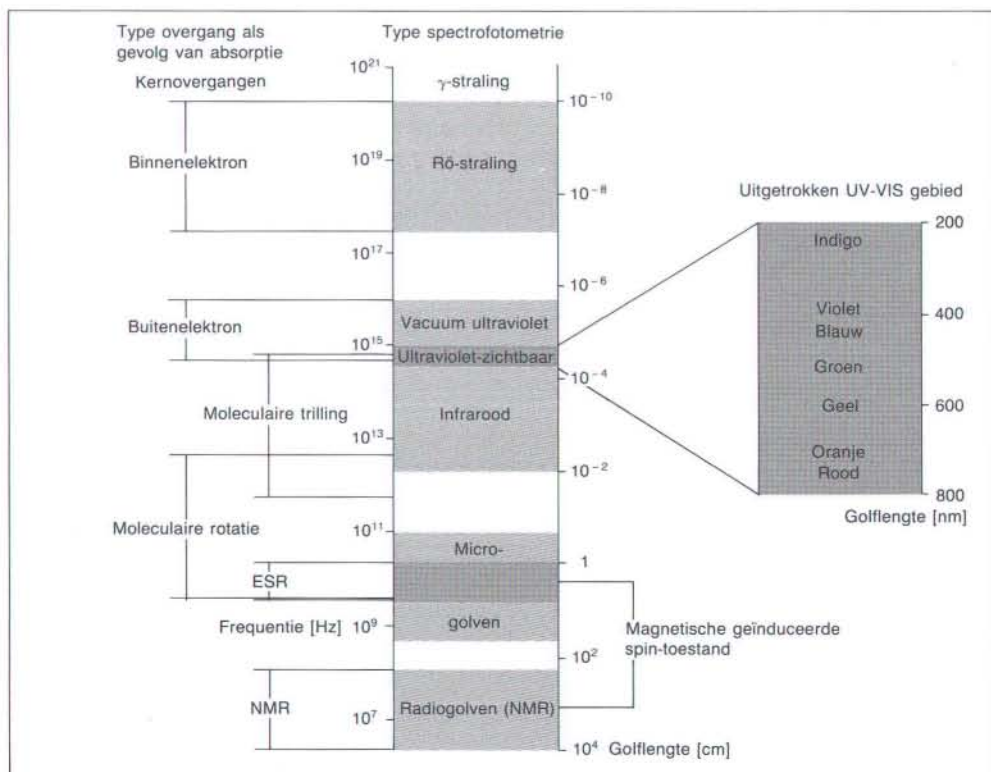
constante van Planck en ν de frequentie), en de molecule, atoom of ion waardoor de energie slechts in bepaalde hoeveelheden (kwanta) kan worden opgenomen en afgestaan. De materie zendt dus straling uit of absorbeert deze.

Door energie-opname komt het te analyseren deeltje in een aangeslagen toestand. De analyse kan berusten op de meting van de golflengtes (frequenties) van de straling die wordt opgenomen, hetgeen informatie verschaft over de aard van de stof (kwalitatieve analyse) en ook over de mate waarin de straling wordt geabsorbeerd (kwantitatieve analyse).

Anderzijds zal het aangeslagen deeltje weer

Links: Fig. 1. Om een representatief én te hanteren monster te krijgen moet men diverse malen pellen, malen, verdelen.

Onder: Fig. 2. De meeste spectrometrische methoden berusten op de wisselwerking tussen straling en materie. Straling, vanaf gamma- tot radiostraling, wordt hierbij gebruikt.

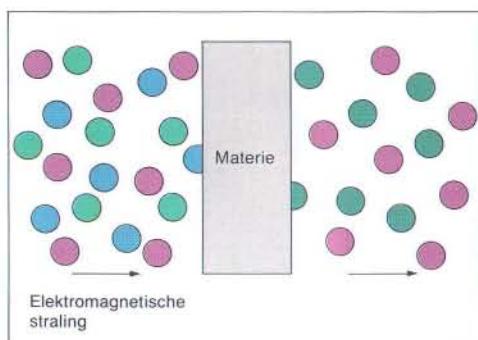


naar een lagere energietoestand terugkeren, waarbij soms straling wordt uitgezonden. De aard van deze emissie geeft weer de kwalitatieve informatie, meting van de intensiteit van de uitgezonden straling kan weer leiden tot kwantitatieve informatie. Overigens kan men een deeltje ook langs andere weg in aangeslagen toestand en dus tot emissie brengen, met name door verhoging van de temperatuur.

De aard van de wisselwerking tussen straling en materie is sterk afhankelijk van de frequentie, of van de golflengte, van de straling, omdat deze de grootte $h\nu$ bepaalt van de energiekwanta waaruit de straling is opgebouwd. Een globale indeling van de elektromagnetische

Op deze twee pagina's hebben we enkele voorbeelden van spectrometrische methoden verzameld. Linksonder een IR-spectrofotometer, die werkt bij een golflengte van 1-100 μm en vaak gebruikt wordt voor het karakteriseren van molecuulverbindingen. Geheel onder een atomic absorption spectrofotometer. Het monster wordt in de gas-fase gebracht. Er wordt een bepaald spectrum hierop ingestraald, waaruit de atomen bepaalde golflengten 'pikken'. De rest gaat gewoon door en wordt geanalyseerd. Deze methode is geschikt om bepaalde elementen aan te tonen. Rechts een zgn. kernspintomogram (NMR) van het hoofd. Deze techniek maakt gebruik van radiogolven, geeft betere beelden bij bijv. weefsels dan röntgen en is ook minder belastend.

Onder: Fig. 3. Het principe van spectrometrie: slechts energiepakketjes van bepaalde grootte (blauw) kunnen worden opgenomen (en afgestaan).

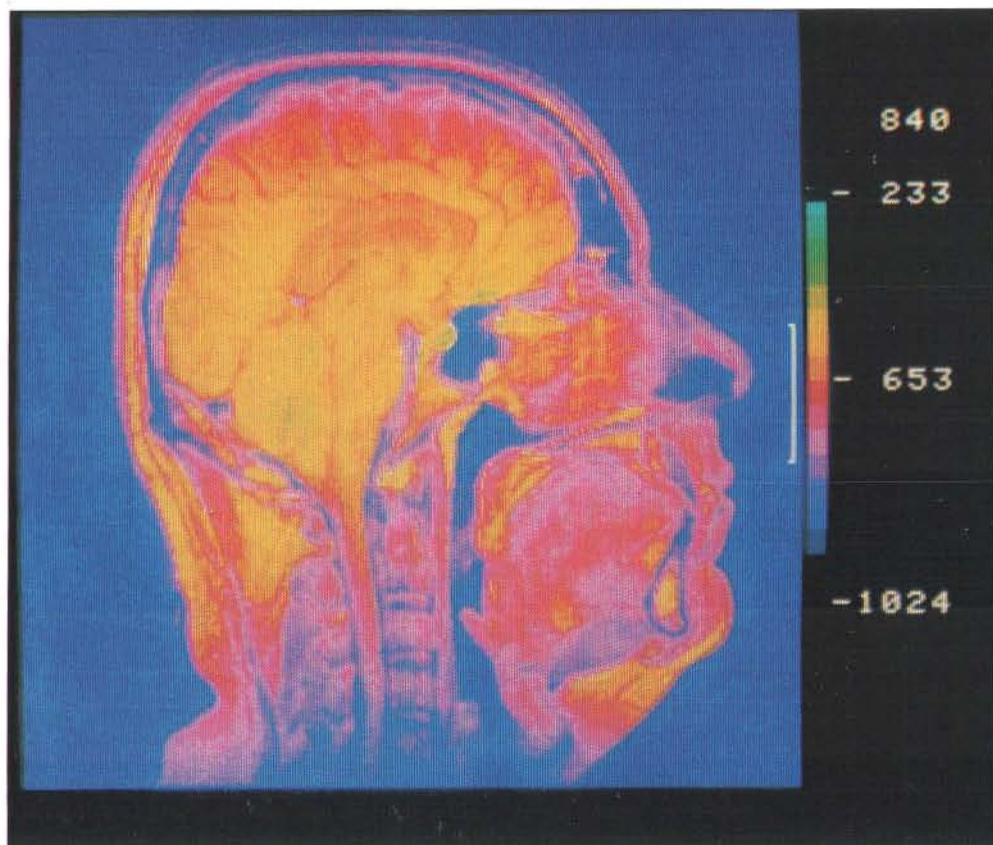


straling naar afnemende energiegrootte van de kwanta met de daarbij behorende interactie met materie volgt hieronder.

γ -straling. Frequentie 10^{20} Hz, golflengte 1-10 pm; deze straling komt vrij bij energie-overgangen in de atoomkernen en wordt toegepast bij de radioanalyse.

Röntgenstraling. Frequentie circa 10^{18} Hz, golflengte 0,1-1 nm; de röntgenkwanta komen wat energie betreft overeen met de overgang van een elektron naar een vacante plaats in één der binnenste banen van het atoom. Met behulp van deze straling kan zowel kwalitatieve als kwantitatieve informatie worden verkregen over de elementsamenstelling van een monster, maar ook over de bindingstoestand. Tevens zijn röntgenstralen een belangrijk hulpmiddel bij de structuuropheldering van moleculen (röntgendiffractie).





UV en zichtbaar licht. Frequentie circa 10^{15} - 10^{16} Hz, golflengte UV 10-400 nm, zichtbaar 400-800 nm; kwanta komen overeen met energie-overgangen van valentie-elektronen en bindingselektronen en analytisch gezien speelt deze straling derhalve een rol bij de atoom- en de molecuulspectrometrie.

Infrarood. Frequentie circa 10^{12} - 10^{14} Hz, golflengte 1 - 100 μ m; de energiekwanta van deze straling komen overeen met energie-overgangen bij trillingen tussen atomen in een molecuule en bij rotaties van moleculen. De analytische toepassing is dus beperkt tot de molecuulspectrometrie.

Microgolven. Frequentie circa 10^{10} - 10^{11} Hz, golflengte 1-100 nm; de energiekwanta van de microgolven komen overeen met de energie die gemoeid is met de instelling van de elektronen-spin in een magnetisch veld. De toepassing van deze elektronenspinresonantie (ESR) liggen in

de opheldering van reactiemechanismen waarbij ongepaarde elektronen (vrije radicalen) een rol spelen.

Radiogolven. Frequentie 10^6 - 10^8 Hz, golflengte 1-1000 m; de energiekwanta van de radiogolven komen overeen met de energie die gemoeid is met de instelling van de kernspin in een magnetisch veld. De toepassingen van de kernspinresonantie (NMR) liggen vrijwel geheel op het terrein van de structuuropheldering van organische verbindingen.

Bij een indeling naar toepassingsgebied worden de spectrometrische technieken vaak onderscheiden in twee groepen, namelijk atoomspectrometrische methoden en molecuulspectrometrische methoden.

De atoomspectrometrie wordt gevormd door een groep van analytische methoden waarbij in het algemeen de kwantitatieve ana-

lyse van de elementsamenstelling van een monster wordt nagestreefd door meting van de absorptie of emissie van UV of zichtbaar licht door het monster dat in de vorm van een heet gas wordt gebracht (plasma). De aard van de emissie of absorptie zal sterk afhangen van de temperatuur van het gas.

De molecuulspectrometrie herbergt een groep analytische methoden waarvan het hoofddoel is de opheldering van de structuur van vooral organische verbindingen. Behalve de reeds genoemde NMR-, ESR- en IR-spectrometrie wordt hier ook toe gerekend de massaspectrometrie, die echter wezenlijk verschilt van de tot dusver besproken methoden, omdat er geen wisselwerking met elektromagnetische golven bij te pas komt.

Radiochemische analyse

Reeds in het voorgaande is aangeduid dat γ -straling vrijkomt bij energie-overgangen binnen de atoomkern. Het verschijnsel van het uiteenvallen van atoomkernen onder uitzending van α -, β - of γ -straling vindt op verschillende manieren toepassing in de analytische chemie.

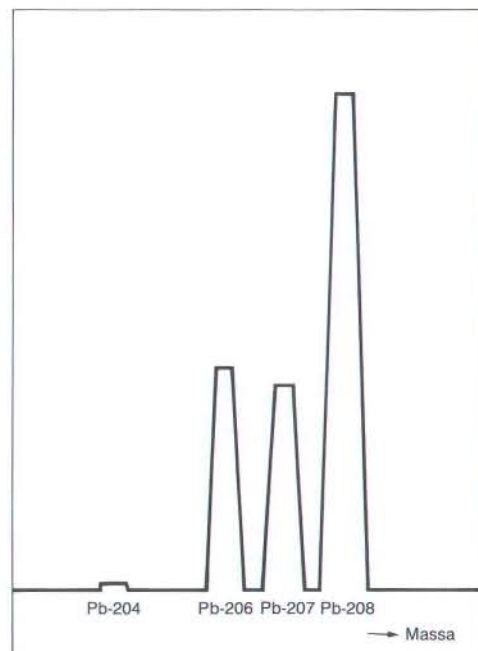
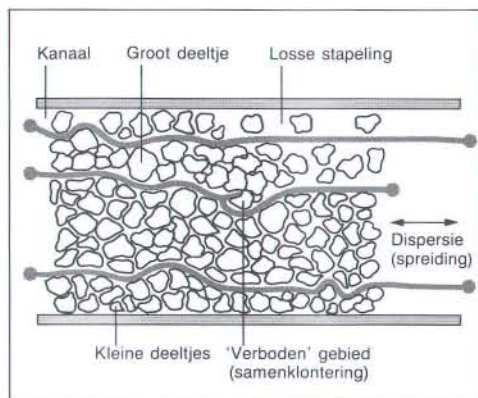
Allereerst is er de activeringsanalyse. Hierbij wordt het te analyseren monster bestraald door een stralingsbron, waarvan de straling in staat is met een atoomkern een kernreactie aan te gaan die leidt tot een voor die stof typerende radioactiviteit. In het algemeen wordt de activeringsenergie bedreven door beschieting van het monster met neutronen uit een kernreactor. Na bestraling is de aard en de intensiteit van de (γ -)straling een kenmerk voor de aard en de concentratie van bepaalde atoomkernen (nucliden) in het monster. Bij deze methode is het niet mogelijk verschillende verbindingen te onderscheiden; men meet slechts de aanwezigheid van bepaalde atoomkernen (d.w.z. zelfs van een bepaald isotoop van een element, een bepaald nuclide dus).

Behalve de activeringsanalyse heeft de radiochemische analyse nog een andere tak, namelijk die waarbij men aan een niet radioactief, te analyseren, monster een hoeveelheid radioactief materiaal van het te analyseren bestanddeel toevoegt. Men 'merkt' dan als het ware het te analyseren bestanddeel. Deze 'tracer'-methoden spelen vooral een belangrijke rol in de biochemische analyse.

Onder: Fig. 4. Bij vloeistofchromatografie, maar ook bij andere, is het van belang de deeltjesgrootte en stapeling in de kolom zo homogeen mogelijk te maken, opdat de dispersie (spreiding) zo klein mogelijk wordt.

Geheel onder: Fig. 5. Een massaspectrogram van lood, met daarin de loodisotopen, Pb-204, Pb-206, Pb-207 en Pb-208. Deze isotopen hebben resp. 204, 206, 207 en 208 nucleonen (kerneleukjes) en verschillen dus in massa.

Rechtsonder: Met HPLC (High Performance (Pressure) Liquid Chromatography) is dit benzinemonster geanalyseerd. Het blijkt dat benzine uit tientallen componenten bestaat.



Massaspectrometrie

Indien gericht op de structuuropheldering van een stof, wordt bij de massaspectrometrie het monster in vacuüm beschoten met elektronen waardoor de moleculen van het monster ioniseren en tevens ten dele in meer of minder grote brokstukken uiteen vallen. (Er zijn overigens ook andere methoden om de fragmentatie te bewerkstelligen.) De geladen brokstukken kunnen in de massaspectrometer door elektrische en magnetische velden worden gesorteerd naar verhouding massa : lading. Aangezien de lading meestal éénwaardig positief is, komt het neer op een sortering naar massa, die leidt tot een voor het monster karakteristiek 'massaspectrum'.

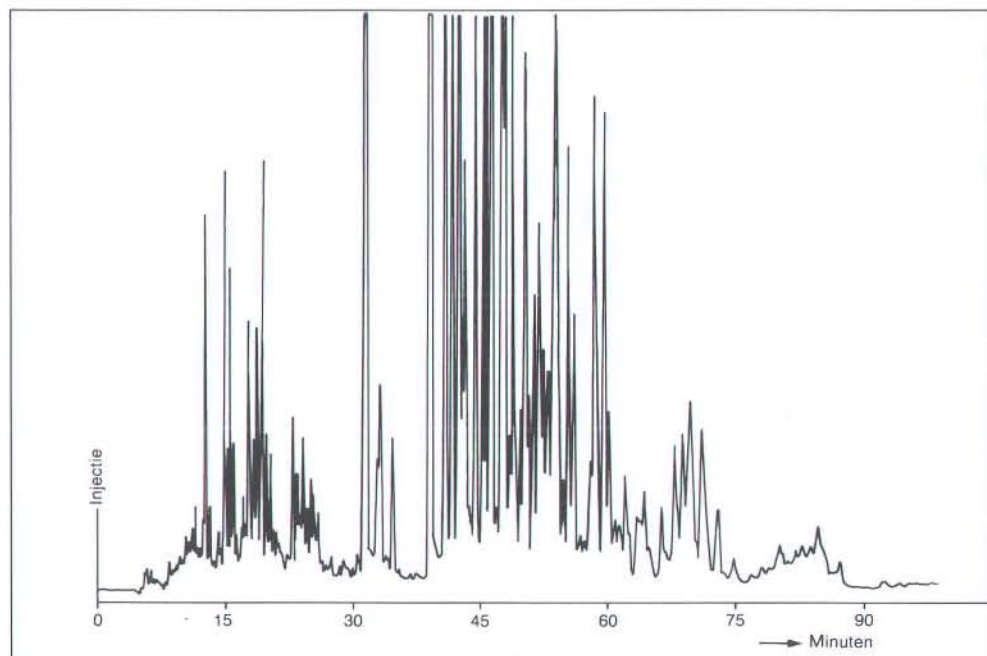
Chromatografie

Vaak wordt men in de analytische chemie geconfronteerd met stoffen die elkaars bepaling storen en die daarom van elkaar moeten worden gescheiden. Veruit de belangrijkste scheidingsmethode is in de praktijk de chromatografie. Het te analyseren monster wordt hierbij gescheiden in de samenstellende com-

ponenten. Men maakt hiervoor gebruik van twee fasen, waarvan de ene mobiel is en de andere stationair. De stationaire fase is in sommige gevallen een buis (kolom) waarvan de wand zelf als stationaire fase dienst kan doen; maar meestal wordt deze aan de binnenzijde bedekt met een materiaal dat als stationaire fase fungeert. De stationaire fase kan ook een buis (kolom) zijn die geheel gevuld is met een bepaald materiaal. Ook dit materiaal kan weer bedekt worden met iets anders. Ook een strook papier kan als stationaire fase dienst doen.

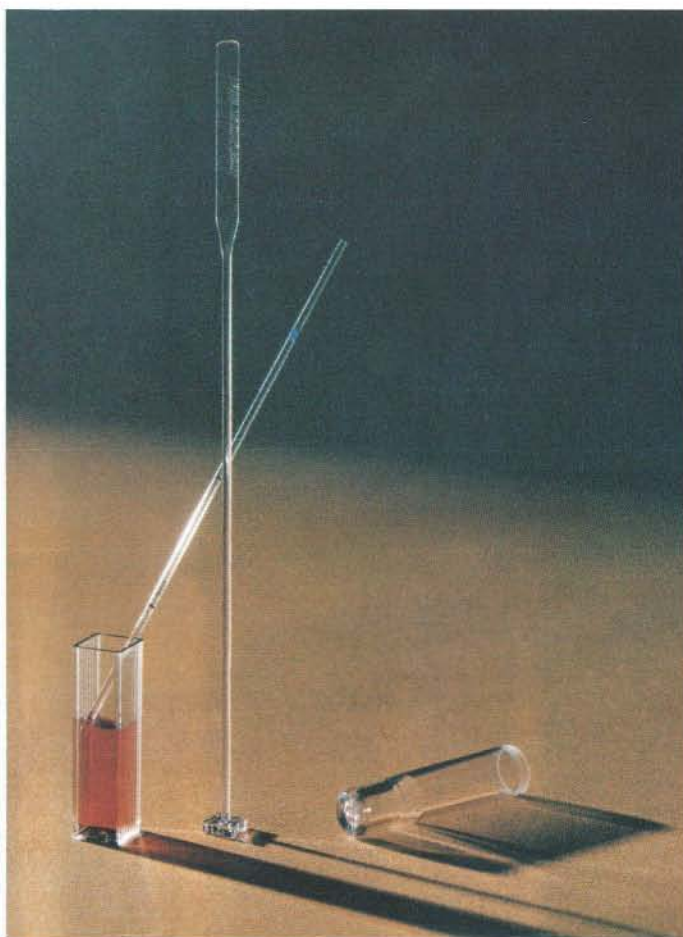
De mobiele fase, waardoor het monster door de kolom langs de stationaire fase wordt getransporteerd, kan een gas zijn in het geval van een vluchtig of een te vervluchtigen monster, of een vloeistof waarin het oplost.

Het monster zal zich enerzijds kunnen hechten aan de stationaire fase maar anderzijds ook oplossen (en dus meegevoerd worden) in de mobiele fase. De verhouding tussen beide neigingen ligt bij iedere stof anders. De stoffen bewegen als het ware met verschillende snelheid door de kolom. Aan het einde van de kolom zorgt een detector voor de meting van de concentraties van de gescheiden componenten.



Rechts: Glaswerk is onontbeerlijk bij de analyse: pipetten, stampers, cuvetten zijn maar enkele voorbeelden.

Geheel rechts: De dunne-laagchromatografie in de praktijk bij de Keuringsdienst van Waren. Op een drager met daarop de 'dunne laag' wordt een oplossing van een onbekende kleurstof gebracht. Daarnaast een aantal wel bekende (referenties). De plaat wordt in de vloeistof gehangen (eluens). De structuur van een bepaalde kleurstof bepaalt de snelheid waarmee hij door de eluens wordt meegenomen. Uit de plaats van de onbekende t.o.v. de bekende na verloop van tijd kan men bepalen welke onbekende het was.



De kwaliteit van een chromatografisch proces wordt bepaald door een reeks van factoren, zoals de keuze van het fasesysteem, de temperatuur, de geometrie van de kolom, de keuze van de detector, enz.

De verschillende vormen van chromatografie worden in de eerste plaats onderscheiden naar de aard van het fasesysteem. Zo staat GLC (gas-liquid chromatography) voor een chromatografisch proces waarbij de mobiele fase gasvormig is en de stationaire fase een vloeistof (aangebracht op een vaste drager). Bij LLC (liquid-liquid chromatography) zijn beide fasen vloeibaar. Bij TLC (thin-layer chromatography) is de stationaire fase een dunne laag van één of ander vast absorberend materiaal; de mobiele fase is een vloeistof.

De grote prestaties van de chromatografie hebben de methode een zeer belangrijke plaats bezorgd vooral bij de bepaling van mengsels van sterk verwante organische verbindingen, zoals die zich voordoen in de klinische chemie en bij de analyses van biologisch materiaal. Hierbij moet ook gedacht worden aan de High Performance (of Pressure) Liquid Chromatography, afgekort HPLC, welke gedurende de laatste tien jaren een enorme vlucht heeft genomen. Met behulp van een grote druk wordt het eluens (mobiele fase) vrij snel door de kolom gestuwd, waardoor de scheiding van een monster met een zeer klein volume zich in een tiental minuten kan voltrekken.

Hoewel de scheiding het primaire doel is bij de chromatografie, is de concentratiebepaling



van de gescheiden componenten in de detector eveneens een vitaal onderdeel van de chromatografie. Voor het principe van de detectie maakt de chromatografie gebruik van meetmethodes uit andere takken van de analytische chemie, zoals UV-detectie, detectie met behulp van de brekingsindex, elektrochemische detectie.

Elektroforese

Elektroforese is een scheidingsmethode die berust op het verschil in snelheid van ionen in een geleidende stof onder invloed van een elektrisch veld. De snelheid waarmee de geladen deeltjes zich in het elektrisch veld bewegen hangt in de eerste plaats af van hun lading. De

beweging is in eerste aanleg versneld maar door de 'weerstand' van het medium tegen de beweging wordt deze na korte tijd eenparig. Doordat die 'weerstand' zal samenhangen met vorm en grootte van de moleculen zal een scheiding optreden.

Elektroanalyse

Bij de elektroanalyse houdt men zich bezig met de analytische toepassingen van elektrochemische processen. De belangrijkste groep toepassingen is die waarbij aan het grensvlak tussen een geleidende vaste stof (elektrode) en een geleidende oplossing een potentiaalverschil (spanningsverschil) wordt aangebracht tussen de elektrode en de oplossing tengevolge waarvan een stroom door het grensvlak gaat lopen. Die stroom wordt veroorzaakt door een chemische reactie waarbij een stof (ox) door opname van één of meer elektronen (e) wordt gereduceerd tot een andere stof (red) of omgekeerd:



Een oxidator is een stof die elektronen kan opnemen en een reductor is een stof die elektronen kan afstaan. Zo is zuurstof een bekende oxidator en waterstof een bekende reductor. Een oxidator doet dus een stof oxideren (d.w.z. elektronen afstaan).

Tussen het spanningsverschil, de stroomsterkte door het grensvlak, de concentraties van red en ox (en soms ook nog de tijd), bestaat een verband dat de grondslag is voor de meeste elektroanalytische methoden. Enkele elektroanalytische methoden berusten op hiervan afwijkende verschijnselen. De belangrijkste daarvan is wellicht de conductometrie waarbij een simpele meting van het geleidingsvermogen een maat is voor de concentraties van de ionen in een vloeistof.

In het voorgaande zijn de belangrijkste methoden van de instrumentele analyse gerubriceerd. Men moet wel bedenken dat niet de gehele instrumentele analyse is bestreken; er bleven nog methodes onbesproken.

Ook is een aantal analysetechnieken buiten beschouwing gebleven die in de praktijk van zeer groot belang zijn, maar waarvan het bestaan en het belang bekend mogen worden verondersteld, zoals bijv. de titreeranalyse en de gravimetrie (de gewichtsanalyse).

TABEL 2. De bepaling van de fout bij een analyse.
Bij deze koolstofbepaling werd dezelfde methode gebruikt.

	Koolstof (%)	Afwijking van gemiddelde (d)	d ²
Monster A	5,64	0,04	0,0016
	5,55	0,05	0,0025
	5,61	0,01	0,0001
	Gemiddelde ($\bar{x}$) = 5,60		Som der kwadraten = 0,0042
Monster B	7,16	0,05	0,0025
	7,22	0,01	0,0001
	7,26	0,05	0,0025
	7,19	0,02	0,0004
Gemiddelde ($\bar{x}$) = 7,21			Som der kwadraten = 0,0055
Monster C	6,59	0,02	0,0004
	6,61	0,04	0,0016
	6,50	0,07	0,0049
	6,60	0,03	0,0009
	6,56	0,01	0,0001
Gemiddelde ($\bar{x}$) = 6,57			Som der kwadraten = 0,0079
Monster D	6,31	0,02	0,0004
	6,33	0,00	0,0000
	6,29	0,04	0,0016
	6,39	0,06	0,0036
	6,34	0,01	0,0001
Gemiddelde ($\bar{x}$) = 6,33			Som der kwadraten = 0,0057
$s = \sqrt{\frac{0,0042 + 0,0055 + 0,0079 + 0,0057}{17 - 4}} = \sqrt{\frac{0,0233}{13}} = 0,0422 \approx 0,04$			

Verwerking van de meetresultaten

Als men bij een analytisch chemische bepaling het meetresultaat heeft verkregen volgen er nog enige belangrijke stappen. De eerste daarvan is de verwerking van de meetresultaten tot de uitkomst van de bepaling.

Het meetresultaat kan in zeer verschillende vormen beschikbaar komen. Het kunnen getallen zijn die men op een meter heeft afgelezen of die door het apparaat digitaal worden afgeleverd, zoals de waarde van een extinctie bij een spectrofotometrische bepaling, maar ook meetwaarden van een stroom bij een amperometrische titratie of van een spanning bij een potentiometrische bepaling. Vaak echter zal het meetresultaat een piekvormig signaal zijn dat op recorderpapier uit het analyse-apparaat komt, met als ondergrond een meer of minder sterk fluctuerende ruis.

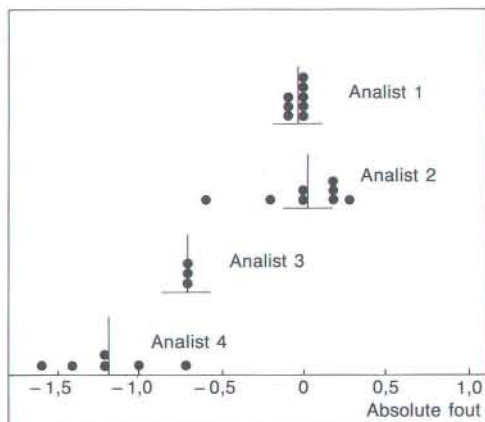
In vele gevallen ligt het voor de hand op welke wijze men de uitkomst van de analyse uit de meetgegevens moet verkrijgen. Vooral echter als men aan de grens van de prestaties van een

analytische methode bezig is, kunnen zich problemen voordoen waarbij bijv. het analytische signaal juist of juist niet in de ondergrond is verdwenen. Speciaal in deze gevallen zijn belangrijke successen geboekt door gebruik van computers bij de verwerking van analytische signalen. Door zorgvuldige analyse van signaal en ruis met behulp van een computer slaagt men er tegenwoordig vaak in analysegegevens te verkrijgen uit meetgegevens waarmee zonder deze hulpmiddelen niets is te beginnen. Met dit soort werk houdt men zich sterk bezig in de chemometrie.

Presentatie van de analyseresultaten

Het einde van de bepaling is de presentatie van de analyseresultaten, die veelal gepaard zal gaan met een statistische evaluatie. Een uitkomst is een resultaat van een grote serie handelingen en metingen zoals die in het voorgaande zijn beschreven en welke alle bijdragen aan de onzekerheid van die uitkomst en wel in tenminste twee opzichten.

Onder: Fig. 6. Bij de bepaling van het stikstofgehalte van vier verschillende stoffen kwam een bepaalde waarde te voorschijn. De bolletjes geven de fouten van de diverse bepalingen aan en het streepje de gemiddelde fout.



Allereerst kunnen fouten van systematische aard worden gemaakt, bijvoorbeeld doordat de te bepalen stof tijdens de bepaling ten dele verloren gaat of doordat andere bestanddelen van het monster een bijdrage geven aan het signaal dat wordt toegeschreven aan de te bepalen stof. Er zijn echter nog vele andere bronnen van systematische fouten te bedenken. Deze categorie fouten tast de *juistheid* (accuracy) van het resultaat aan. Men kan het vóórkomen van deze fouten op het spoor komen door de

bepalingsmethode te beproeven op een verwant monster van bekende samenstelling. Deze referentiematerialen komen de laatste tijd steeds meer beschikbaar voor een groot aantal in de praktijk voorkomende materialen.

De tweede categorie fouten is die van toevallige fouten. Deze categorie fouten tast de *nauwkeurigheid* (precisie, reproduceerbaarheid) van het resultaat aan. In elke handeling zit een fluctuatie, zoals ook in elke meting of beoordeling (bijv. van de kleuromslag bij een titratie). Deze toevallige fouten leiden tot een spreiding van de analyseresultaten rond de werkelijke waarde. Het komt hoogst zelden voor dat als men twee maal dezelfde meting doet, men tot op de laatste decimaal hetzelfde resultaat krijgt. (Probeer maar eens twee maal de omtrek van de kamer tot op een mm te meten.) Door het uitvoeren van een aantal dezelfde bepalingen van hetzelfde monster kan deze spreiding statistisch gekarakteriseerd worden. Men krijgt dan de zgn. standaardafwijking van de bepalingmethode. Het gehele proces van de bepaling dient daarbij voor elke bepaling te worden doorlopen. Via de vergelijking met referentiematerialen en de vaststelling van de standaardafwijking kan men een uitspraak doen over de betrouwbaarheid van het eindresultaat. Een dergelijke uitspraak bevat echter zoals elke statistische uitspraak een onzekerheid waarover degenen die de bepaling uitvoert en de opdrachtgever het van te voren eens moeten worden.

Aldus is het gehele proces tot een einde gekomen. Begonnen werd met het overleg tussen de analyticus en de opdrachtgever over de definiëring van het probleem, geëindigd wordt met het resultaat en een daaraan verbonden uitspraak omtrent de betrouwbaarheid ervan.

Literatuur

- Boef, G. den, (1983). *Theoretische grondslagen van de analyse in waterige oplossingen*. Elsevier.
 Galan, L. de, (1976). *Analytische spectrometrie*. Elsevier.
 Freese, F., Linden, W.E. van der, (1981). *Elektrochemische analysemethoden*. Elsevier.
 Boosten, P., Kampen, E.J. van, (1981). *Het verwerken van waarnemingsresultaten*. Elsevier.

Bronvermelding illustraties

- Perkin-Elmer Nederland B.V., Gouda: pag. 854-855, 862.
 Siemens Nederland N.V., Den Haag: pag. 855 inzet, 863.
 Nieuws DSM, Limburg: pag. 856, 857.
 Van Oostmessen, Den Haag: pag. 858-859.
 J.T. Baker Chemicals B.V., Deventer: pag. 859.
 Danfoss/Itho B.V., Schiedam: pag. 862 onder.
 Boehringer Mannheim B.V., Almere: pag. 866.
 Keuringsdienst van Waren, Enschede: pag. 867.

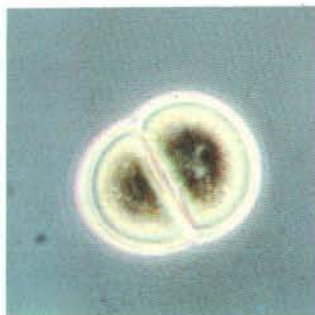
L.J. Stal en H. van Gernerden
Universiteit Oldenburg, Bondsrepubliek Duitsland

MICROBIËLE MATTEN

Tussen het vasteland en de Waddeneilanden liggen grote gebieden die zelfs bij vloed zelden onder water staan. Enorme oppervlakten kunnen hier bedekt worden door cyanobacteriën ('blauwwieren'). Tijdens de groei van deze veelal draadvormige organismen slaat er veel fijn sediment op neer. Zo ontstaat een microbiële mat. Deze bacteriën die net als groene planten afhankelijk zijn van licht, verrijken het sediment met organisch materiaal. Bij afbraak door sulfaat-reducerende bacteriën ontstaat hieruit sulfide. Dit maakt de groei van purperen zwavelbacteriën mogelijk, zodat er een gelaagd microbiëel ecosysteem ontstaat.

In dit artikel wordt ingegaan op de biologische processen die betrokken zijn bij het totstandkomen van een microbiële mat en daaruit resulterende geologische fenomenen.

Vliesdun ecosysteem geeft kleur aan het wad





Deze microbiële mat op de westplaat van het eiland Mellum is al enigszins gekoloniseerd door zeekraal. Dit is het begin van een proces dat uiteindelijk tot de vorming van een kwelder leidt. In de microbiële mat komt een groot aantal verschillende bacteriën voor, waarvan een viertal hier is afgebeeld: van links naar rechts: de cyanobacterie *Gloeocapsa* en de purperen zwavelbacteriën *Chromatium*, *Thiocapsa* en *Ectothiorhodospira*. De gele bolletjes in de *Chromatium* bacterie zijn in de cel opgeslagen zwavelkorrels.

De Waddenzee

De Waddenzee strekt zich uit over een groot gebied voor de kust van Nederland, West-Duitsland en Denemarken. Aan de Noordzeezijde wordt zij begrensd door een keten van eilanden. Tussen deze eilanden en het vasteland bevindt zich een ondiepte, die gekenmerkt wordt door grote zandplaten, die bij eb droog komen te liggen.

Het grootste gedeelte van de Waddenzee bestaat uit fijnzandige sedimenten, het zogenaamde zandwad. Met name in de riviermondingen en estuaria komt ook slikwad voor, dat uit nog fijnere deeltjes bestaat. De structuur van de Waddenzee is aan voortdurende verandering onderhevig, waarbij vele processen een rol spelen.

De Waddenzee is een uniek natuurgebied. Het belang ervan ligt in de extreem hoge primaire produktie: de vorming van organisch materiaal uit koolzuur en water met behulp van zonlicht. Dit proces is de motor voor het hele ecosysteem.

Primaire produktie op het zandwad

De primaire produktie in het slikwad is reeds goed onderzocht en wordt voornamelijk door kiezelalgen (diatomeeën) uitgevoerd. Het slikwad vormt slechts een fractie van het totale waddengebied. Van het overgrote deel, het

zandwad, is nog slechts weinig bekend met betrekking tot de primaire produktie.

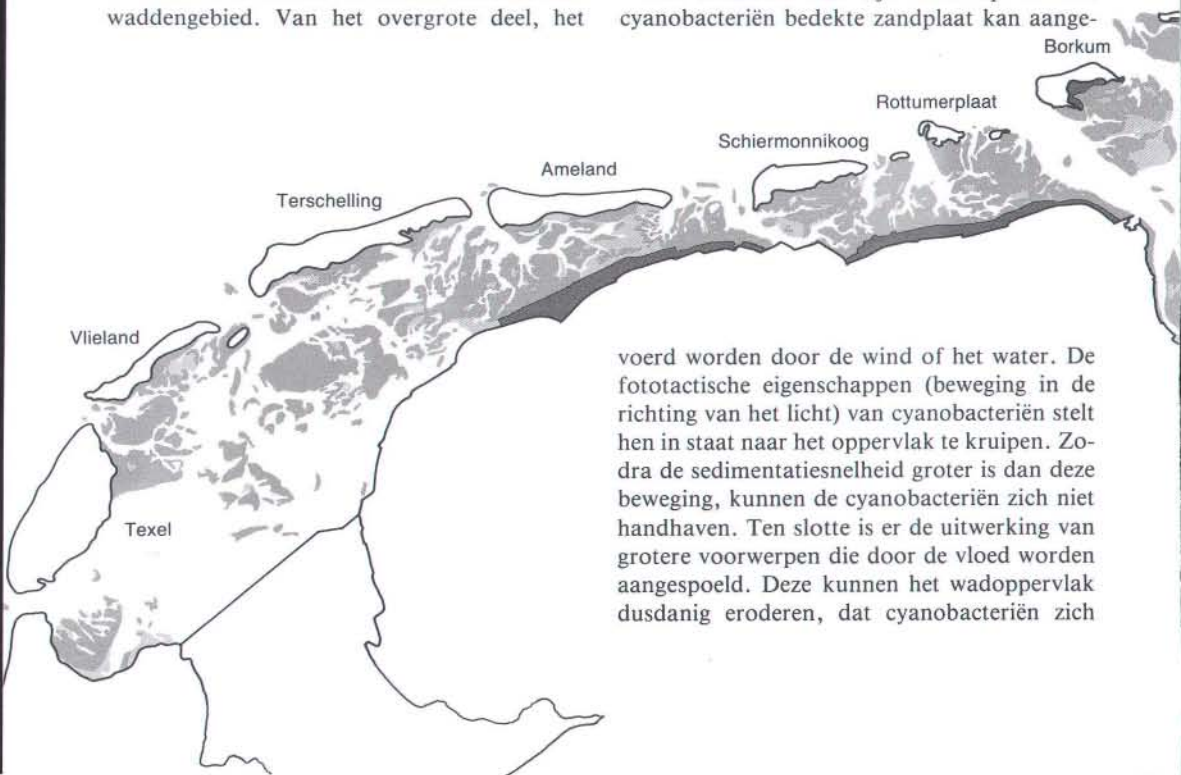
In het algemeen geldt dat het zandwad arm is aan voedingsstoffen, met name aan organisch materiaal, nitraat en ammoniak. Alleen bepaalde soorten cyanobacteriën ('blauwwallen') kunnen hier groeien. Deze fototrofe, dat wil zeggen lichtafhankelijke, organismen zijn uniek omdat zij zowel koolzuur als ook stikstof uit de lucht kunnen binden. Het fijnzandige sediment, dat overwegend uit kwarts (SiO_2) bestaat, is een goed aanhechtingsmateriaal (substraat) voor op de bodem levende cyanobacteriën, terwijl licht er relatief diep in doordringt.

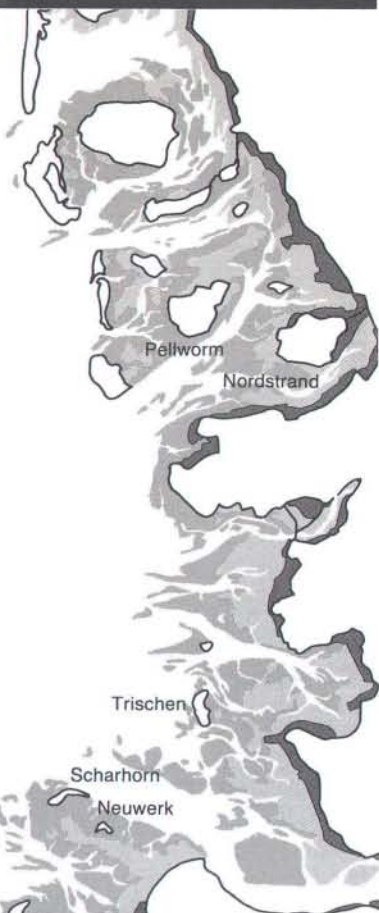
Het ontstaan van dichte populaties cyanobacteriën op het zandwad wordt echter tegengegaan door een aantal oorzaken, waarop hieronder wordt ingegaan.

Zo kunnen cyanobacteriën als voedsel dienen voor verschillende organismen. Vissen (bijv. de harder) kunnen bij hoogwater op de overspoelde zandplaten komen en de daar groeiende cyanobacteriën opeten. Verder eten ook slakken, borstelwormen en kleine schaaldieren (crustacea) de cyanobacteriën. Deze graasdruk op de groei van cyanobacteriën is afhankelijk van de tijd dat het sediment onder water staat. Neemt deze tijd af, dan neemt de populatie toe.

Een sediment van fijn zand op de met cyanobacteriën bedekte zandplaat kan aange-

voerd worden door de wind of het water. De fototactische eigenschappen (beweging in de richting van het licht) van cyanobacteriën stelt hen in staat naar het oppervlak te kruipen. Zodra de sedimentatiesnelheid groter is dan deze beweging, kunnen de cyanobacteriën zich niet handhaven. Ten slotte is er de uitwerking van grotere voorwerpen die door de vloed worden aangespoeld. Deze kunnen het wadoppervlak dusdanig eroderen, dat cyanobacteriën zich





Boven: Op de overzichtskaart van het Nederlandse, Duitse en een deel van het Deense deel van het Waddengebied is het slikwad met een middelgrijze tint aangegeven, terwijl het zandwad lichtgrijs is. De donkere tint duidt op aanlandingen.

Geheel boven: Het eiland Mellum is gelegen op de uiterste punt van de Hohe Weg, in de Jade in het Duitse deel van het Waddengebied, bij Wilhelmshaven. Het onbewoonde eiland is tot beschermd natuurgebied verklaard en een belangrijk broedgebied en trekstation voor vele zeldzame vogels. Mellum is een eiland in wording. Aan het begin van deze eeuw was het niet meer dan een zandplaat, die twee keer per etmaal bij vloed onder water stond. De groei van het eiland is een opmerkelijk verschijnsel, waarvoor het stabiliserend effect van microbiële matten op het fijnzandige sediment grotendeels verantwoordelijk is.

De foto is genomen in noordelijke richting, links is de westplaat, waarop veelvuldig de microbiële matten worden aangetroffen.



niet massaal kunnen ontwikkelen. In de winter kunnen bijv. ijsschotsen bestaande populaties vernietigen.

Het ontstaan van een dichte populatie cyanobacteriën op het wadoppervlak wordt dus bevorderd door de aanwezigheid van uitgestrekte, zeer vlak verlopende getijdenzones. Goed ontwikkelde populaties worden dus meestal aangetroffen op relatief beschutte plekken. Een gebied, dat aan deze voorwaarden voldoet, wordt op het eiland Mellum gevonden.

Mellum is een relatief klein waddeneiland in het Duitse gedeelte van de Waddenzee, ten noorden van Wilhelmshaven. Mellum is een zeer jong eiland; aan het begin van deze eeuw was het niet meer dan een zandplaat die met elke vloed onder water kwam te staan. Het eiland is daarna snel groter geworden en nu voor een aanzienlijk deel van zandplaat tot land geworden. De groei gaat tot op de dag van vandaag door met een verbazingwekkende snelheid: het is een waddeneiland in wording.

Het onbewoonde Mellum is een beschermd natuurgebied en een uiterst belangrijke broedplaats voor vele zeldzame vogels. De snelle groei wordt zeker ook veroorzaakt door het feit dat de uitgebreide zandwadvlakten door cyanobacteriën zijn gekoloniseerd. Deze cyanobacteriën vormen stevige structuren: de microbiële matten. Deze matten hebben een sedimentbindende werking, waardoor de platen beter bestand zijn tegen erosie.



Het Farbstreifen-Sandwatt

Bij een nadere beschouwing van microbiële matten blijkt in veel gevallen dat onder de groene laag cyanobacteriën een rode laag voorkomt. Deze gelaagdheid verklaart waarom voor deze biotoop de naam Farbstreifen-Sandwatt (gekleurde-streepjes-zandwad) ingeburgerd is geraakt.

Hoe ontstaat nu zo'n Farbstreifen-Sandwatt? Zoals reeds gezegd, is het zandwad een biotoop die zeer arm is aan belangrijke voedingsstoffen, met name gebonden stikstof en organisch materiaal. De mogelijkheid om koolstof en stikstof te binden maken cyanobacteriën bij uitstek geschikt om die biotoop te koloniseren. Mede door de fototactische beweging vervlechten de draadvormige organismen zich tot een hechte structuur. Hierdoor wordt sediment ingesloten: er ontstaat een mat.

Fototrofe organismen veroorzaken een continue toevoer van organisch materiaal in het sediment. Heterotrofe bacteriën, die geheel afhankelijk zijn van organisch materiaal in de omgeving, breken dit materiaal weer af. Aanvankelijk is dit een aeroob (onder verbruik van zuurstof) proces, maar door het zuurstofverbruik wordt het milieu dieper in de mat al snel anaeroob (zuurstofloos). De anaerobe afbraak van organisch materiaal verloopt via vele stappen onder invloed van een zeer diverse bacteriepopulatie. Doordat het zeewater rijk is aan sulfaat, treedt één groep van microorganismen



Linksboven: Door de groei en het metabolisme van cyanobacteriën vinden belangrijke structurele veranderingen op het zandwad plaats. De draadvormige cyanobacteriën zijn in staat matten te vormen, waarin nieuw afgezet zand wordt vastgehouden. Deze matten oefenen een stabiliserende werking uit op het sediment. Mechanische erosie van matten kan optreden door ijsschotsen in de winter en door grotere voorwerpen die door de vloed op het wad geworpen worden, of door stormvloed.

Boven: Grote delen van het wad zijn hier bedekt met matten van cyanobacteriën. Gedurende de groeiperiode vertonen deze matten de typische blauw-groene kleur van cyanobacteriën. Het voortdurend sedimenteren van nieuw zand en het invangen daarvan door cyanobacteriën, verhoogt het wadoppervlak, waardoor de vloed deze regionen steeds minder vaak met water bedekt. Nu kunnen ook planten zoals zeekraal (*Salicornia*) hier groeien.

Rechtsboven: Uiteindelijk worden de matten gekoloniseerd door vele andere planten. Op deze wijze zijn cyanobacteriën ervoor verantwoordelijk dat uiteindelijk een kwelder ontstaat. De snelle groei van het jonge eiland Mellum wordt mede verklaard door dit proces.

in het bijzonder op de voorgrond: de *sulfaat-reducerende bacteriën*. Deze organismen kunnen relatief eenvoudige organische verbindingen afbreken, waarbij sulfaat gereduceerd wordt tot sulfide. Daar eveneens veel ijzer in dit milieu voorkomt, wordt veel ijzersulfide (FeS) gevormd. Dit is zeer slecht oplosbaar en veroorzaakt de typische zwarte kleur van de diepere lagen van het wad.

Het gevormde sulfide kan worden benut door anaerobe fototrofe bacteriën, de *purperen zwavelbacteriën*. Deze bacteriën gebruiken voor de fotosynthese het licht, dat niet door de erboven liggende cyanobacteriën geabsorbeerd wordt. Op deze wijze ontstaat een kenmerkend groen-rood-zwart gelaagd microbiel ecosysteem.



Links: In dit typische beeld van het 'Farbstreifen-Sandwatt' bevindt zich onder de groene laag met cyanobacteriën een dunne rood-bruine laag met purperen zwavelbacteriën. Veel organisch materiaal dat door fotosynthese in het sediment wordt ingevoerd wordt anaeroob afgebroken. Sulfaatreducerers spelen hierbij een grote rol. Het bij de sulfaatreductie ontstane sulfide verbindt zich met ijzer tot het zwarte onoplosbare ijzersulfide.

De belangrijkste organismen

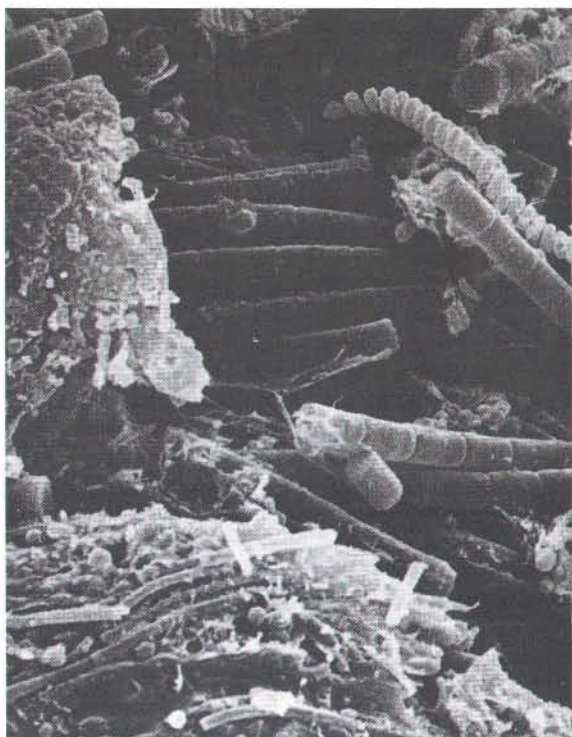
Een belangrijke groep organismen wordt dus gevormd door de *cyanobacteriën*. De naam van deze groep is afgeleid van de karakteristieke blauw-groene kleur. Deze is afkomstig van de in de cellen aanwezige fotopigmenten. Het groene chlorofyl *a* is het bekendste daarvan. Daarnaast vinden we in cyanobacteriën het blauw gekleurde fotopigment *fyco-cyanine*. In sommige soorten komt ook nog een rood gekleurd pigment voor: het *fyco-erythrine*. Doordat deze drie pigmenten in de meest uiteenlopende verhoudingen kunnen voorkomen, varieert de kleur van cyanobacteriën van hel-groen, blauw-groen, bruin tot rood.

Deze bacteriën hebben zeer verschillende vormen. Er zijn ééncellige ronde vormen en draadvormige soorten. In de microbiële maten van Mellum komen overwegend draadvormige cyanobacteriën voor. Het belangrijkste organisme is zonder twijfel *Oscillatoria*, dat steeds als eerste het zandwad koloniseert. Dit organisme is een belangrijke stikstofbinder. De spiraalvormige *Spirulina* wordt in kleinere aantallen in jonge maten gevonden. *Microcoleus chthonoplastes* die meestal in dikke bundels voorkomt, is verantwoordelijk voor het viltachtige karakter van de mat. Dit organisme verschijnt echter pas nadat *Oscillatoria* het wad gekoloniseerd heeft.

De purperen zwavelbacteriën (*Chromatiaceae*) danken hun naam aan de rode tot bruine kleur, die veroorzaakt wordt door carotenoiden. Het belangrijkste fotopigment is echter bacteriochlorofyl *a*. De purperen zwavelbacteriën kunnen geen of slechts lage concentraties zuurstof verdragen. Bij hun fotosynthese ontstaat geen zuurstof, maar zwavel door oxydatie van sulfide. Dit wordt bij de meeste soorten in de cel opgeslagen en is microscopisch duidelijk zichtbaar. Het zwavel wordt verder geoxydeerd tot sulfaat.

In de rode laag van het Farbstreifen-Sandwatt komen voornamelijk *Chromatium vinosum*, *Thiocapsa roseopersicina* en *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* voor. De eerste twee soorten slaan zwavel in de cel op, de laatste niet.

De sulfaatreducerende bacteriën zijn een groep van strikt anaerobe bacteriën die eenvoudige organische verbindingen kunnen oxy-

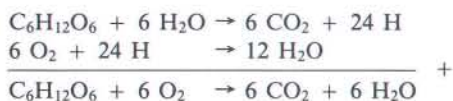


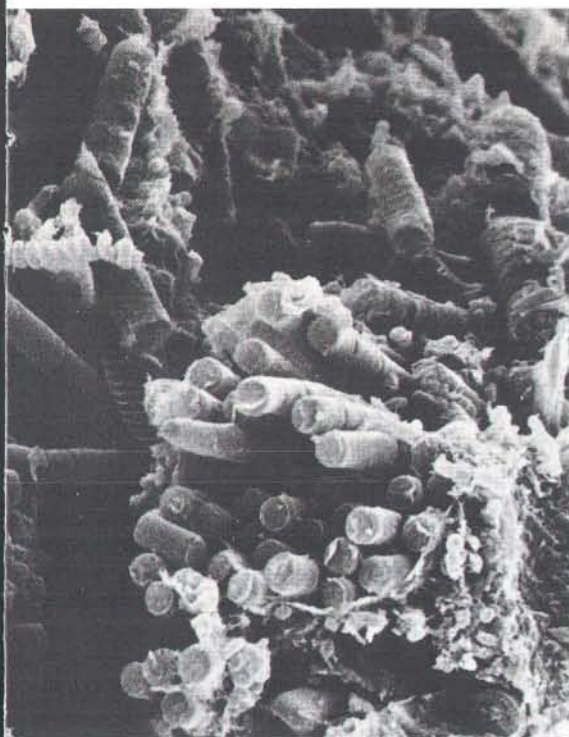
deren. Hierbij wordt sulfaat gereduceerd tot sulfide. Door het hoge sulfaatgehalte in het zeewater zijn sulfaatreducteurs in mariene sedimenten met veel organisch materiaal in groten getale aanwezig.

Ademhaling

Alle levende wezens hebben energie nodig. Vele organismen, waaronder de mens, voorzien hierin door de afbraak van organisch materiaal met zuurstof. Deze organische stof is echter eerst gevormd door levende wezens, die zonlicht als energiebron gebruiken.

Bij *ademhalingsprocessen* wordt een substraat (bijv. glucose) geoxydeerd, waarbij de elektronen worden overgedragen op een acceptor die daarbij gereduceerd wordt. De aerobe verademing van glucose kan worden geschreven als:





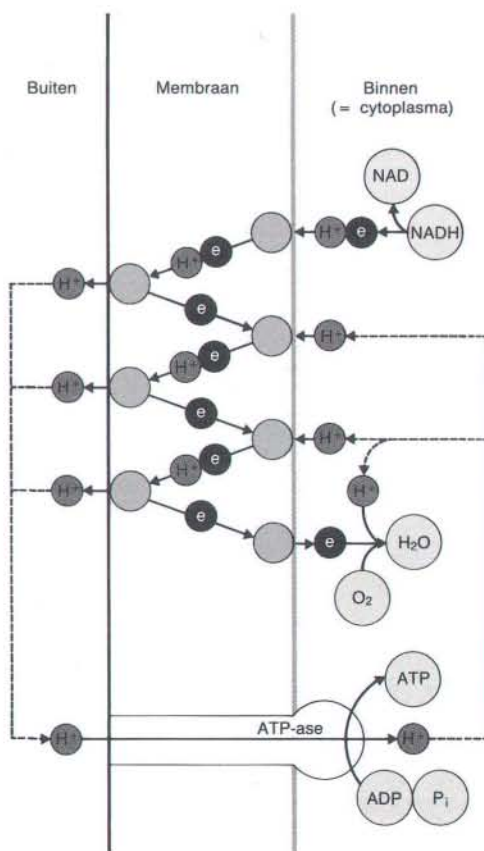
Boven: Deze scanningelektronenmicroscopische opname van de cyanobacteriële mat toont enkele veel voorkomende cyanobacteriën. Duidelijk herkenbaar is de spiraalvormige *Spirulina* en de *Oscillatoria* met in filamenten gerangschikte schijfvormige cellen.

Microcoleus chthonoplastes is het belangrijkste organisme dat verantwoordelijk is voor de vorming van de mat. Kenmerkend voor dit organisme is dat meerdere filamenten gebundeld in een gemeenschappelijke schede liggen. Het voordeel van een dergelijke schede zou bescherming tegen uitdroging kunnen zijn. Daar de mat soms dagen of weken lang niet onder water komt, wordt de overlevingskans in zo'n schede beduidend groter.

Rechts: Fig. 1. Schematische voorstelling van de oxydatie van NADH met behulp van zuurstof en de daarbij optredende synthese van ATP (aerobe ademhaling). De componenten van de elektronentransportketen zijn zodanig in de celmembraan gerangschikt, dat van binnen (cytoplasma) naar buiten steeds één of twee protonen plus één of twee elektronen worden verplaatst, maar van buiten naar binnen alleen één of twee elektronen. Het resultaat is een verplaatsing van protonen van binnen naar buiten. Deze kunnen in het cytoplasma terugkeren via het enzym ATP-ase onder gelijktijdige vorming van ATP uit ADP en P_i .

Veelal functioneert NAD of NADP als acceptor voor de gevormde waterstof. In werkelijkheid verlopen zulke processen via een serie van aaneengesloten oxydatie-reductiereacties met overdracht van elektronen. Bij maar een klein aantal van deze stappen ontstaat direct ATP, de universele biologische energiedrager.

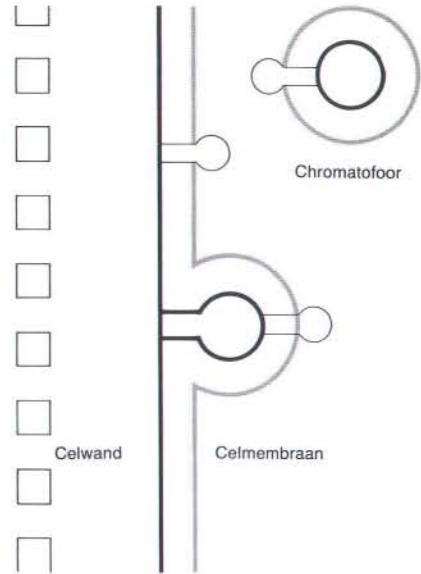
De verschillende componenten in de elektronentransportketen zijn zodanig in de membraan gerangschikt dat een ladingsscheiding optreedt: protonen (H^+) worden van binnen naar buiten verplaatst (zie fig. 1). Dit vormt de drijvende kracht (de zogenaamde proton motive force (pmf)) waardoor het enzym ATP-ase ATP kan vormen, terwijl gelijktijdig transport van H^+ van buiten naar binnen plaats heeft. Enkele processen (bijv. de rotatie van bacteriële flagellen en de glijdende beweging van cyanobacteriën) worden direct gedreven door de pmf .



Het gebruik van zuurstof als uiteindelijke elektronenacceptor leidt tot de vorming van water. Er zijn gespecialiseerde bacteriën die bij de oxydatie van substraten nitraat, sulfaat, elementaire zwavel of carbonaat gebruiken in plaats van zuurstof. Dit wordt anaerobe ademhaling genoemd. De eindproducten zijn dan stikstof, waterstofsulfide of methaan (N_2 , H_2S , CH_4).

Fotosynthese

Bij de fotosynthese treedt ook elektronentransport op. De componenten van de elektronentransportketen zijn in de membraan van de chromatoforen, waarin zich de fotopigmenten bevinden, gerangschikt op een soortgelijke wijze als in fig. 1. Chromatoforen zijn instulpingen van de celmembraan en hebben dienengevolge een binnenste-buiten oriëntatie (zie



Boven: Fig. 2. Deze figuur laat zien dat de chromatoforen een 'inside-out' oriëntatie hebben. Wat oorspronkelijk de binnenzijde van de celmembraan was (grijs) wordt nu de buitenzijde van de chromatofoor. Het resultaat is dat zowel de ATP gevormd in de celmembraan als de ATP gevormd in de chromatoforen in het cytoplasma terecht komen.

Links: Fig. 3. Schematische voorstelling van de vorming van ATP in de oxygene fotosynthese, waarbij zuurstof het eindproduct is. Het proces kan leiden tot de productie van NADPH waarbij water als elektronendonor optreedt. De fotopigmenten bevinden zich in de chromatoforen.

Rechtsboven: Fig. 4. Cyanobacteriën produceren NADPH onder invloed van licht. Als water optreedt als elektronendonor, zijn beide fotosystemen nodig, bij gebruik van H_2S alleen fotosysteem I. De reactiecentra zijn groen aangegeven, de lichtinvang gebeurt door antennenpigmenten (rood). De plaats van de componenten in de tekening geeft het redoxniveau aan (sterk gereduceerde componenten boven; sterk geoxydeerde beneden).

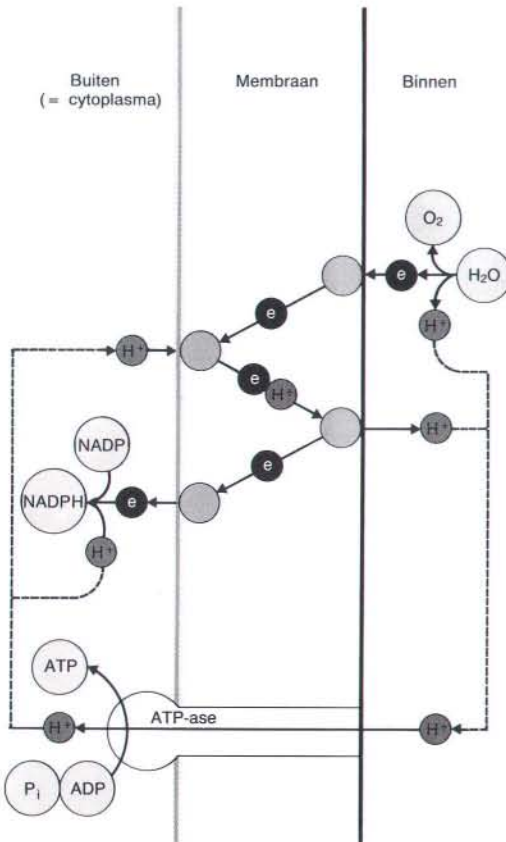
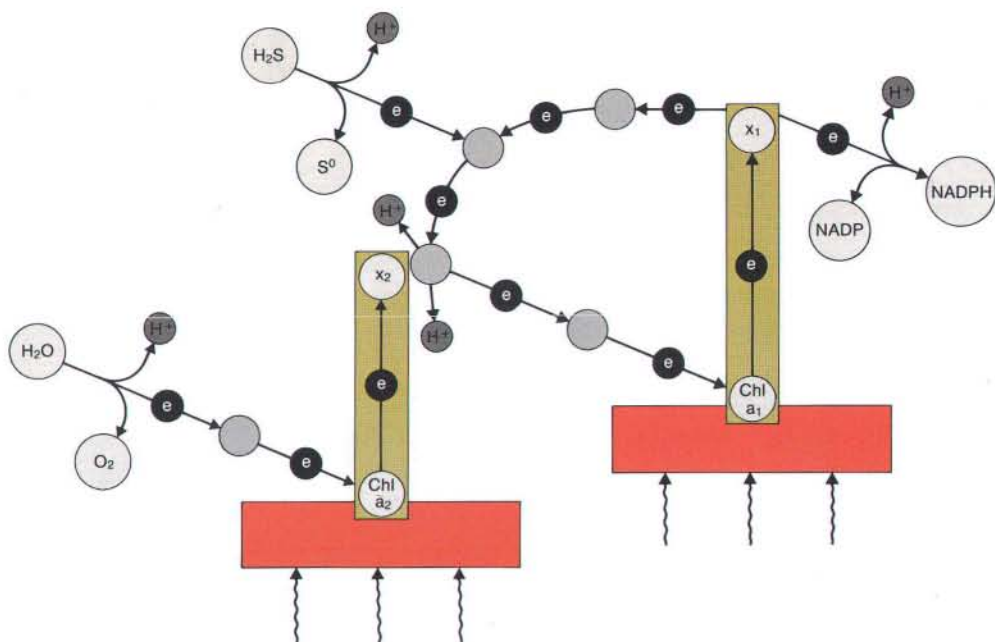


fig. 2). De binnenzijde van de celmembraan wordt de buitenzijde van de chromatofoor. Schematisch kan de oxygene (water als elektronendonor, zuurstof als product) fotosynthese, zoals deze wordt uitgevoerd door groene planten en cyanobacteriën dus worden voorgesteld als weergegeven in figuur 3.

Met water als elektronendonor zijn er twee fotosystemen (in serie geschakeld) nodig om de reductie van NADP te komen. Het licht wordt ingevangen door chlorofyllen en andere



pigmenten. De opgevangen energie wordt overgedragen aan een relatief klein aantal chlorofylmoleculen in de zogenaamde reactiecentra (zie fig. 4).

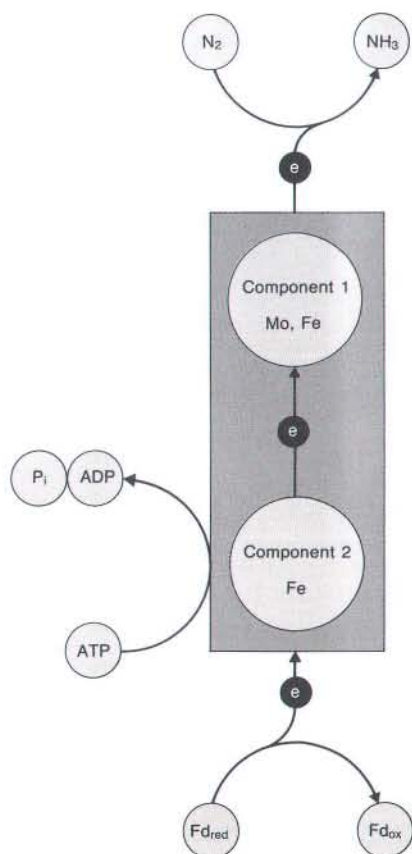
Fototrofe bacteriën, met uitzondering van de cyanobacteriën, hebben maar één fotosysteem (vergelijkbaar met fotosysteem I). Zij kunnen daarom water niet gebruiken als elektronendonor en zijn aangewezen op substraten die veel sterker gereduceerd zijn. Als zodanig treedt vaak sulfide op.

Boven: Cultures van zes verschillende fototrofe bacteriën, geïsoleerd uit het 'Farbstreifen-Sandwatt' van Melum. De kleuren worden veroorzaakt door verschillende fotopigmenten. In de flesjes bevinden zich cultures van fototrofe bacteriën met bacteriochlorofyl *a* en carotenoiden die een anoxygene fotosynthese hebben. De erlenmeyers bevatten cultures van cyanobacteriën met chlorofyl *a* en phytylbiliproteïnen.

Stikstofbinding

Bij afwezigheid van een stikstofbron kan geen synthese van eiwit optreden. De meeste organismen hebben voor de groei nitraat of ammoniak nodig. Een aantal bacteriën, waaronder cyanobacteriën, bezit het enzym *nitrogenase*, waardoor gebruik van het stikstof uit de lucht mogelijk wordt.

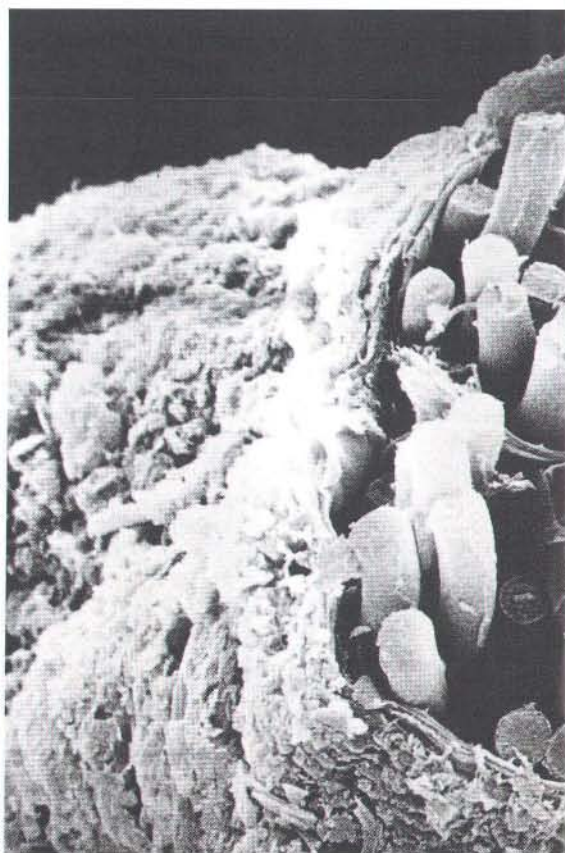
Het enzymcomplex nitrogenase bestaat uit twee componenten. Component I is een molybdeen-ijzereiwit, component II bevat een ijzercentrum. De binding tussen beide stikstofatomen in de stikstofmolecule is zeer stabiel en er is veel energie nodig om deze binding te verbreken. Om stikstof tot ammoniak te reduceren zijn zes elektronen nodig:



Elektronen worden via het eiwit ferredoxine aan het nitrogenasecomplex afgegeven en wel aan component II. Per elektron zijn eveneens vier tot vijf moleculen ATP nodig. Met behulp van ATP wordt de redoxpotentiaal omlaag gebracht. Dat maakt het mogelijk dat het elektron overgedragen wordt op component I. Deze kan op zijn beurt kan stikstof reduceren (zie fig. 5)

Stikstoffixatie is een zeer reductief proces en de nitrogenase wordt sterk geremd of geïnactiveerd door zuurstof. Organismen, welke in aerobe milieus stikstof fixeren, moeten over mechanismen beschikken om de nitrogenase tegen zuurstof te beschermen.

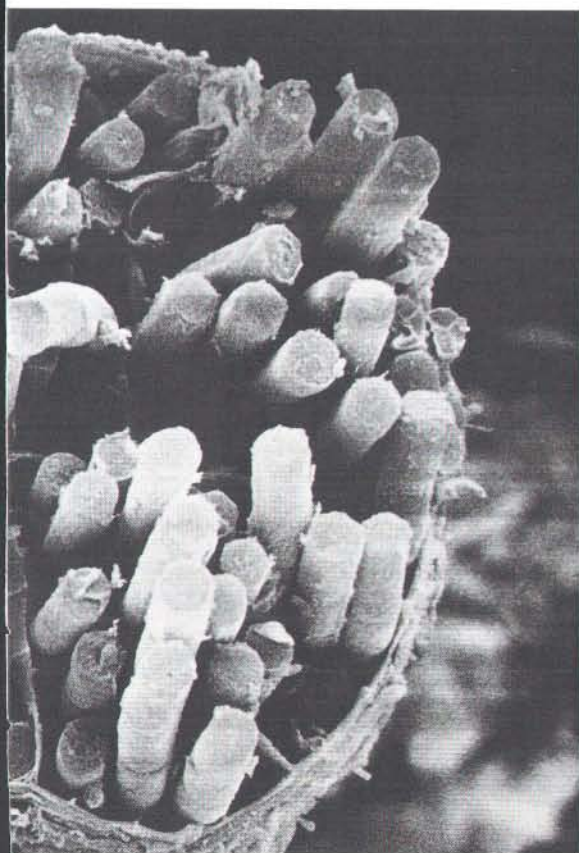
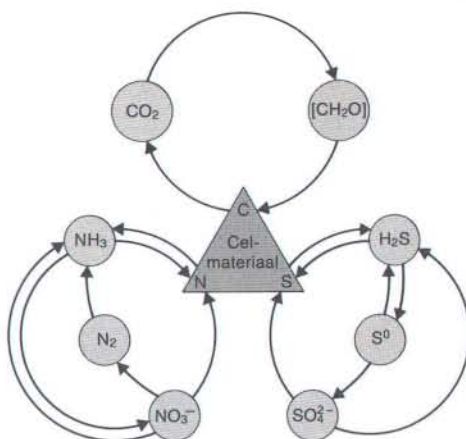
Nitrogenase is niet specifiek voor stikstof. De reductie van acetyleen tot ethyleen door nitrogenase heeft wijde verbreiding gevonden als methode voor het meten van de activiteit van nitrogenase.



Linksonder: Fig. 5. De werking van nitrogenase berust op de overdracht van elektronen van een sterk gereduceerd niveau (gereduceerd ferredoxine) op component II. Dit complex kan onder verbruik van ATP component I reduceren, wat op zijn beurt N_2 kan reduceren tot NH_3 .

Rechts: Fig. 6. De kringlopen van C, N en S hangen onderling samen. Alleen die verbindingen zijn afgebeeld die belangrijk zijn voor het functioneren van het 'Farbstreifen-Sandwatt'.

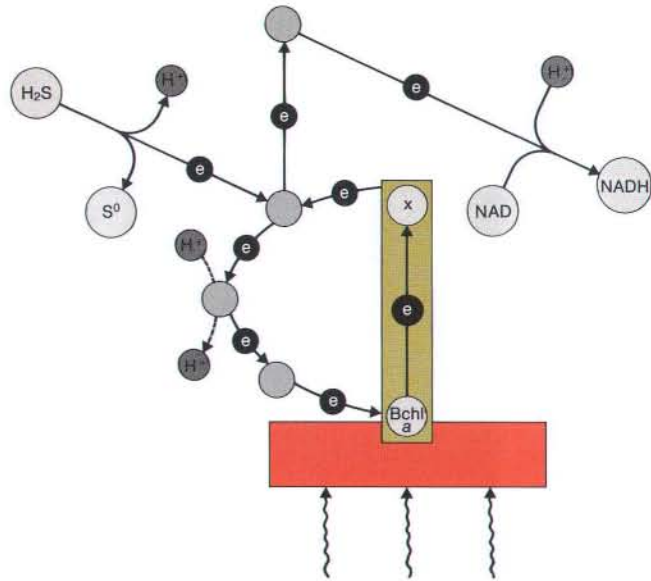
Onder: Een scanningelektroenmicroscopische opname van *Microleus chthonoplastes* in hun gemeenschappelijke schede. De opname is gemaakt van een van Mellum afkomstig monster.



De kringlopen van koolstof, stikstof en zwavel

Hoewel de hoeveelheid koolstof op aarde gigantisch groot is, is het toch niet zo dat de voorraden onbeperkt zijn. Er zijn berekeningen gemaakt, waaruit blijkt dat bij het ontbreken van afbraakmechanismen (mineralisatie) de fotosynthese na ongeveer 2000 jaar zou stoppen bij gebrek aan koolzuur. Ook voor andere elementen geldt dat de uitgangsverbinding teruggevormd moet worden om groei van allerlei organismen mogelijk te blijven maken.

Fotosynthese en ademhaling zijn de twee belangrijkste processen in de koolstofcyclus. De reductie van sulfaat tot sulfide en de oxydatie van sulfide tot sulfaat zijn bepalende processen in de zwavelcyclus. De kringlopen van elementen als stikstof, zwavel en koolstof staan ook met elkaar in verbinding (zie fig. 6). De fixatie van stikstof door cyanobacteriën is een proces uit de stikstofkringloop, dat van doorslaggevend betekenis is voor het verloop van processen uit de zwavelcyclus. Immers, de fixatie van stikstof leidt tot de vorming van celmateriaal, dat bij anaerobe afbraak leidt tot de reductie van sulfaat tot sulfide. Deze laatste verbinding wordt door de purperen zwavelbacterie *Chromatium* weer geoxydeerd tot sulfaat (anoxygene fotosynthese), onder gelijktijdige reductie van koolzuur tot celmateriaal.



Aanpassingen

De activiteiten van levende organismen worden beïnvloed door vele milieufactoren. Factoren van algemene aard die een invloed hebben op ecosystemen zijn bijvoorbeeld de temperatuur, de zuurgraad (pH) en het zoutgehalte (saliniteit). Niet alleen een hogere of een lagere waarde is van invloed, ook de snelheid waarmee de veranderingen optreden heeft voor het ene organisme andere gevolgen dan voor een ander.

Voor sterk gelaagde ecosystemen zoals het Farbstreifen-Sandwatt zijn naast deze algemene factoren drie parameters van bijzondere betekenis: licht, zuurstof en sulfide. De intensiteit van licht en de concentraties van zuurstof en sulfide laten een sterk verloop zien, zelfs over afstanden van tienden van een millimeter (zie fig. 10). Bovendien vertonen zulke gradiënten gedurende een etmaal sterke verschuivingen in de diepte.

Deze veranderingen staan niet los van elkaar, integendeel. Dit wordt duidelijk als men bedenkt dat de productie van zuurstof (door cyanobacteriën) en de oxydatie van sulfide (door purperen zwavelbacteriën) processen zijn die zich alleen in het licht kunnen afspelen, maar de productie van sulfide (door sulfaatreducerende bacteriën) onafhankelijk van





Linksboven: Fig. 7. Bij de produktie van NADPH door purperen zwavelbacteriën wordt gebruik gemaakt van sulfide als elektronendonor. Daardoor kunnen de organismen volstaan met één fotosysteem. De gevormde zwavel treedt ook op als elektronendonor en wordt geoxydeerd tot sulfaat. Ook sommige cyanobacteriën kunnen sulfide als elektronendonor benutten.

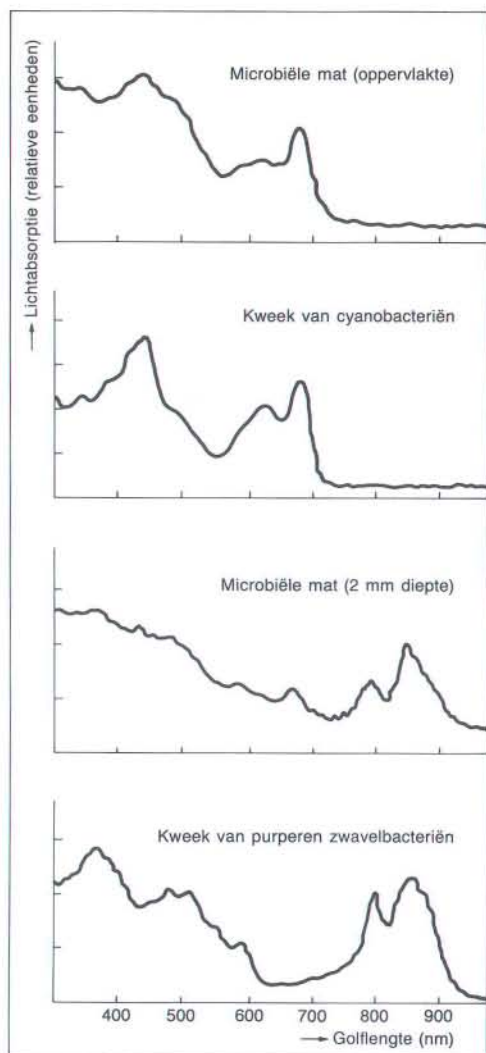
Boven: Over de gehele wereld verspreid komen microbiële matten voor. Door de hoge temperatuur en de hoge lichtintensiteit zijn zulke matten in de tropen gewoonlijk veel dikker dan op onze breedten. Op deze foto zijn matten van de Laguna Guerrero Negro, in de Baai van Californië in Mexico te zien.

Links: Deze foto toont een doorsnede van de mat van Laguna Guerrero Negro. Onder de dikke donker laag cyanobacteriën wordt een vrijwel even dikke laag purperen zwavelbacteriën aangetroffen. De laag met fotosynthetische activiteiten kan hier plaatselijk tot 1 cm dik zijn. Hieronder een laag waar dood organisch materiaal onder zuurstofrijke condities wordt afgebroken.

het licht verloopt. Overigens bestaat een ecosysteem zoals het Farbstreifen-Sandwatt natuurlijk niet alleen uit cyanobacteriën, purperen zwavelbacteriën en sulfaatreducerende bacteriën. In de laag waar zowel zuurstof als sulfide voorkomen, komen organismen voor als *Thiobacillus* en *Beggiatoa* die sulfide met zuurstof oxyderen. In wat oudere matten zullen hogere organismen (bijv. nematoden — draadwormen) de bacteriën als voedsel gebruiken. De activiteiten van al deze organismen bepalen mede de verschuivingen in de zuurstof- en sulfidegradiënten gedurende een etmaal.

Zowel cyanobacteriën als purperen zwavelbacteriën worden dus geconfronteerd met stijgende en tot nul dalende concentraties van zuurstof en sulfide. Beide groepen blijken aan deze condities te zijn aangepast. Sommige cyanobacteriën kunnen naast water ook zwavelwaterstof als elektronendonor in de fotosynthese gebruiken (zie fig. 7). Purperen zwavelbacteriën zijn specialisten op het gebied van de sulfide-oxydatie. In aanwezigheid van lage concentraties zuurstof kunnen ze echter ook ademhalen.

Cyanobacteriën en purperen zwavelbacteriën bezitten het vermogen om energie te halen uit de afbraak van intracellulaire glucoseketens. Op deze wijze zijn ze in staat om donkerperiodes te overleven. De glucoseketens



Boven: Fig. 8. De verdeling van de verschillende bacterietypen is af te lezen van uit deze *in vivo* spectra van de oppervlaktelaag van de bacteriële mat van Mellum en de laag op 2 mm diepte. Ter vergelijking zijn de absorptiespectra afgebeeld van een cyanobacterie en een purperen zwavelbacterie. Het spectrum van de bovenste laag komt overeen met die van de kweek van de cyanobacterie, de diepere laag vertoont grote gelijkenis met het spectrum van de purperen zwavelbacterie.

worden in de voorafgaande lichtperiode gesynthetiseerd uit koolzuur.

Onder aerobe condities worden glucoseketens door cyanobacteriën verademd, waarbij koolzuur gevormd wordt. Onder anaerobe omstandigheden kunnen cyanobacteriën op twee verschillende manieren energie verkrijgen uit de afbraak van die ketens. In de afwezigheid van elementaire zwavel treedt een gisting op, met melkzuur als eindproduct. In aanwezigheid van zwavel is sprake van een anaerobe ademhaling met elementaire zwavel als uiteindelijke elektronenacceptor.

Bij de purperen zwavelbacteriën worden de glucosketens omgevormd tot poly- β -hydroxyboterzuurketens (PHB). De bij dit proces vrijkomende elektronen worden overgedragen op de in de cellen opgeslagen elementaire zwavel. Het op deze wijze in het donker ontstane sulfide is kwantitatief echter nauwelijks van betekenis.

Licht

Onder de dichte laag cyanobacteriën komen toch nog andere fototrofe bacteriën tot opbloei. Bij de vraag of er voor de laatste dan wel voldoende licht doordringt, moet in ogenschouw genomen worden dat de cyanobacteriën uit het ingestraalde zonlicht alleen het licht met een golflengte kleiner dan 700 nm filteren, terwijl purperen zwavelbacteriën absorptie-maxima hebben die tussen 800 en 900 nm liggen (zie fig. 8).

Bovendien is het zo dat de lichtintensiteiten die nodig zijn om purperen zwavelbacteriën snel te laten groeien heel laag zijn. Op een zomerse dag kan de totale verlichtingssterkte waarden bereiken van $600 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Licht met golflengtes tussen de 400 en 700 nm dringt voor 0,1-0,2 procent door de cyanobacteriële laag; boven de 700 nm kan dit tot meer dan 3 procent oplopen. Laboratoriummetingen aan cultures van purperen zwavelbacteriën hebben aangetoond, dat een verlichtingssterkte van $5-10 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ nog voldoende is om maximale groei mogelijk te maken. Fotosynthese treedt nog op tot beneden $1 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Deze waarnemingen tonen aan dat de lichtdoorlaatbaarheid van de bovenste laag voldoende groot is om groei van fototrofe bacteriën die zich onder een laag van cyanobacteriën bevindt, mogelijk te maken.

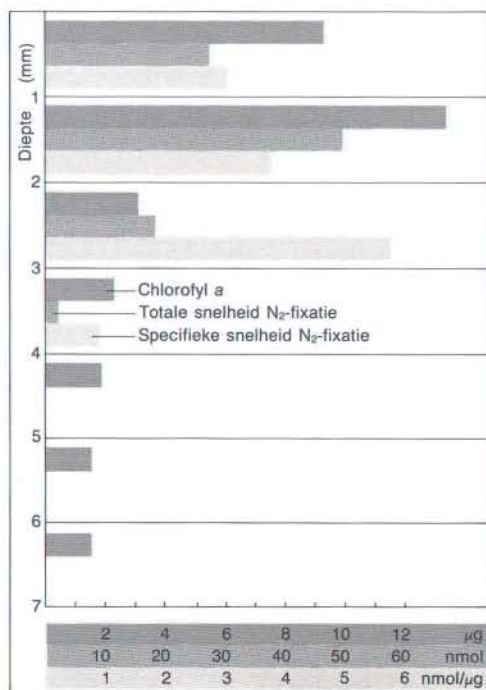
Stikstof en zuurstof

Het geheim van cyanobacteriën om kale zandvlakten te koloniseren ligt verborgen in hun vermogen stikstof te binden. Daardoor maken zij later groei van andere organismen mogelijk. Net zoals de produktie van zuurstof en de oxydatie van sulfide, is ook de binding van stikstof niet constant gedurende een etmaal. Dit is mede een gevolg van het feit, dat de produktie van zuurstof in de oxygene fotosynthese maximaal is gedurende de dag, terwijl het nitrogenase-enzym juist zeer gevoelig is voor zuurstof. Van belang is echter ook dat de binding van stikstof een zeer kostbaar proces is en de lichtgedreven produktie van ATP gedurende de dag natuurlijk het hoogst is. Deze factoren resulteren in een fluctuatie in de stikstofbindingssnelheid gedurende een etmaal. De stikstofbinding komt pas op gang

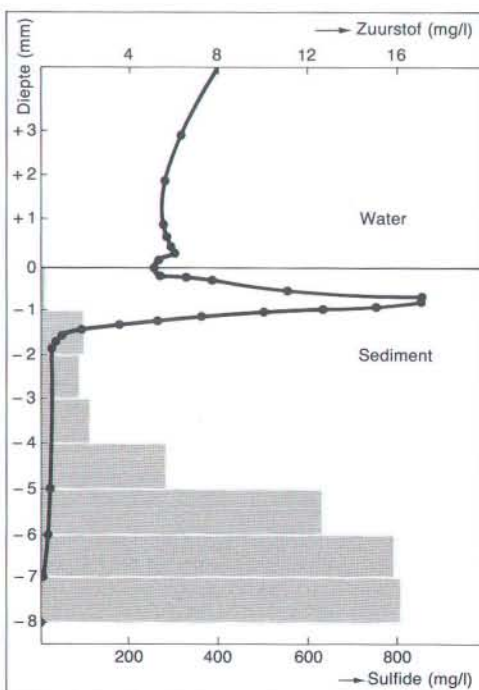
wanneer de zon opkomt (4 uur) maar daalt snel als bij hogere zonnestanden (9 uur) de zuurstofproduktie toeneemt.

De hoogste concentratie cyanobacteriën (gemeten aan de hand van de concentratie van chlorofyl *a*) bevindt zich op een diepte tussen 1 en 2 mm (zie fig. 9). Het verloop van de stikstofbinding vertoont ogenschijnlijk hetzelfde beeld, met dien verstande dat dieper dan 4 mm geen stikstofbinding meer kon worden waargenomen. Als echter de binding van stikstof in verband wordt gebracht met de hiervoor verantwoordelijke organismen, ontstaat een ander beeld. Dan blijkt duidelijk dat de cyanobacteriën in de laag tussen 2 en 3 mm diepte de hoogste specifieke activiteit hebben. Deze waarnemingen stemmen geheel met wat men zou verwachten op grond van het eerder behandelde zuurstofprofiel overeen (zie fig. 10).

Onder: Fig. 9. De verticale verdeling van cyanobacteriën (gemeten als chlorofyl *a*) en het vermogen N_2 te binden in de bovenste millimeters van het Farbstreifen-Sandwatt. De hoogste celdichtheden en de hoogste nitrogenase-activiteiten worden gevonden op diepten tussen 1 en 2 mm. Het specifieke vermogen tot stikstofbinding is echter maximaal tussen 2 en 3 mm diepte.



Onder: Fig. 10. Verticale verdeling van zuurstof in het 'Farbstreifen-Sandwatt' en een dun laagje daarop staand water (getrokken lijn). De metingen werden verricht rond het middaguur met behulp van een micro-elektrode. De figuur toont eveneens de verdeling van sulfide (balken). De concentraties van vrij sulfide (H_2S , HS^- , S^{2-}) waren extreem laag.





Linksboven: Fototrofe organismen hebben licht nodig als energiebron. Het invallende licht wordt door pigmenten in de cel geabsorbeerd en omgezet in chemische energie. Afhankelijk van het soort pigment wordt slechts een gedeelte van het zonlicht geabsorbeerd. De purperbacteriën zijn in staat om dat gedeelte van het zonlichtspectrum te benutten, dat de cyanobacteriën niet absorberen. Op deze wijze zijn purperbacteriën in staat om te groeien onder een laag van cyanobacteriën.

Rechtsboven: Purperen zwavelbacteriën zijn niet altijd onder een laag cyanobacteriën aanwezig, zoals blijkt uit het ontbreken van de paarsbruine laag uit de linker figuur. Het massaal voorkomen van de purperbacteriën is sterk afhankelijk van de ouderdom van de mat. De productie van sulfide, en daarmee de groei van de purperen zwavelbacteriën, treedt pas op als er voldoende organische stof geproduceerd is. Aan de andere kant laat een dikkere mat minder licht door.

Rechts: Onder bepaalde condities kunnen mat-vormende micro-organismen calciumzouten neerslaan. Op deze wijze kunnen versteende formaties ontstaan, die echter de gelaagde structuur behouden hebben. De foto toont zo'n fossiel gelaagde formatie: Devil's Head op het Sinai schiereiland aan de Golf van Aquaba (Egypte).



Zuurstof en sulfide

De concentratie van zuurstof in het sediment en de vlak daarboven liggende waterlaag vertoont zulke grote veranderingen over een afstand van slechts 1 tot 2 mm dat nauwkeurige metingen alleen met behulp van micro-elektroden kunnen worden uitgevoerd. De diameter van zulke glazen elektroden is ongeveer 0,005-0,010 mm en ze worden met behulp van een micromanipulator in het sediment neergelaten. Een zuurstofprofiel dat met een micro-elektrode is verkregen, is afgebeeld in figuur 10. De hoogst zuurstofaccumulatie wordt aangetroffen in de laag cyanobacteriën, ongeveer 0,6 mm onder het oppervlak.

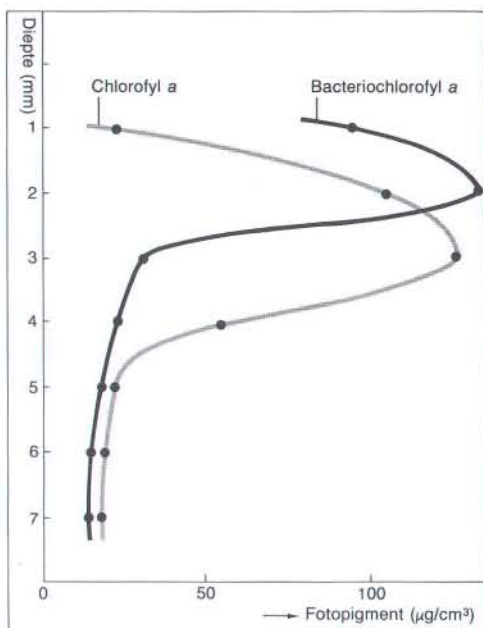
In de sedimenten komt sulfide voor in de vrije vorm (H_2S , HS^- , S^{2-}) en als gebonden sulfide. Van het gebonden sulfide komt FeS het meeste voor. FeS kan door dissociatie voor

naleving van vrij sulfide zorgen, dit proces is echter alleen van enige betekenis bij zeer lage concentraties van vrij sulfide en opgelost ferrijsijzer (Fe^{2+}). Vrij sulfide in S^{2-} vorm kan worden gemeten met specifieke micro-elektrodes zoals al beschreven voor zuurstof. Midden op de dag is de concentratie van vrij sulfide in de bovenste centimeter zeer laag (maximaal enkele $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). De totale concentratie van sulfide (vrij en gebonden) neemt toe met de diepte.

Fotopigmenten

De bovenste laag van het Farbenstreifen-Sandwatt wordt volledig gedomineerd door cyanobacteriën; groene algen en diatomeeën komen slechts in kleine aantallen voor. Daardoor kan de jaarlijkse cyclus gevolgd worden door het periodiek meten van het chlorofyl *a*





Boven: Fig. 11. Verticale verdeling van cyanobacteriën (gemeten als chlorofyl *a*) en purperen zwavelbacteriën (gemeten als bacteriochlorofyl *a*) in het 'Farbstreifen-Sandwatt' op Mellum. Duidelijk is te zien dat de purperen bacteriën zich onder de laag cyanobacteriën ontwikkelen.



Boven: Deze foto toont een detail uit de Devil's Head, waarvan de dunne laagjes (lamina), die elk een groei-periode van een mat vertegenwoordigen duidelijk zichtbaar zijn. Deze formatie is ongeveer 20 000 jaar geleden ontstaan in een hypersaline (zeer zoute) lagune. Stromatolieten uit het precambrium zijn op vrijwel zeker identieke wijze ontstaan.

Rechtsonder: Er zijn verschillende bewijzen dat stromatolieten van biologische oorsprong zijn. De laatste jaren worden steeds meer fossielen van micro-organismen ontdekt. Vele van deze microfossielen vertonen een opvallende gelijkenis met recente cyanobacteriën. Op de foto cyanobacterie-achtige fossielen uit de Gunflint-formatie, Ontario, Canada. Deze bacteriën hebben een ouderdom van 1,8 tot 2,1 miljard jaar.

gehalte. De groei van de mat begint meestal in mei, het groeiseizoen eindigt doorgaans in november, maar bij een rustig en zonnig najaar kunnen actieve matten nog wel in december worden aangetroffen. Strengere winters, zoals die van 1979-1980, richten zo veel schade aan dat het vormen van nieuwe matten in de volgende zomer langzamer tot stand komt. De afbraak van de matten in de winter is niet alleen een gevolg van de temperatuurdaling. Vooral ook de golfwerking, met name het heen en weer bewegen van wrakhout en dergelijke, slaat grote stukken los van de ondergrond. De-

ze worden weggespoeld waardoor de kolonisatie sterk wordt teruggedrongen.

In een biotoop als het Farbstreifen-Sandwatt reflecteren de fotopigmenten chlorofyl *a* en bacteriochlorofyl *a* de overheersing van respectievelijk cyanobacteriën en purperen zwavelbacteriën. De verticale verdeling van deze pigmenten toont aan dat er daarbij een zekere mate van overlapping optreedt (zie fig. 11). Dit betekent dat een tekort aan voedingsstoffen kan ontstaan, dat leidt tot concurrentie om sulfide tussen purperen zwavelbacteriën en cyanobacteriën.



Geologische aspecten

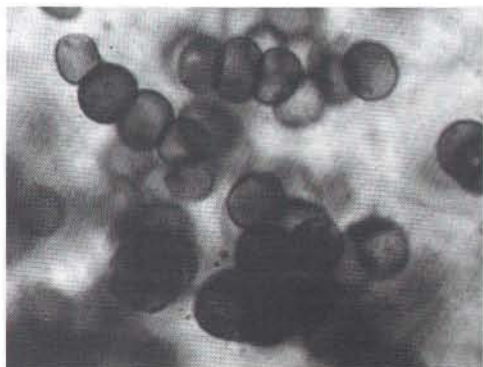
Het Farbstreifen-Sandwatt is een verschijnsel dat niet alleen in de Waddenzee voorkomt. Soortgelijke gelaagde microbiële ecosystemen treffen we over de gehele wereld aan. Met name in de tropen kunnen dergelijke matten respectabele dikten bereiken door de hoge temperatuur en lichtintensiteit. Met enkele uitzonderingen vinden we dergelijke matten steeds in getijdengebieden. Microbiële matten kunnen ook in zeer zoute meren en zoutpan-

nen ontstaan. Onder bepaalde condities kunnen calciumzouten in deze matten neerslaan; de microorganismen katalyseren dan dit proces.

Men neemt aan dat gelaagde microbiële matten analoog zijn aan de precambrische stromatolieten. Stromatolieten zijn fijn gelaagde steenformaties. Men neemt aan dat deze steenformaties onder invloed van microorganismen gevormd zijn. De oudst bekende stromatolieten zijn 3,5 miljard jaar oud. De aarde zelf is 4,5 miljard jaar oud. In deze stromatolieten kunnen microfossielen worden aangetroffen, die een opvallende overeenkomst vertonen met recente cyanobacteriën.

In de vroegste tijden was de aardse atmosfeer nog totaal gereduceerd en anaeroob. Men veronderstelt dat cyanobacteriën oorspronkelijk slechts één fotosysteem hadden en een anoxygene fotosynthese uitvoerden. Later zou dan het tweede fotosysteem ontwikkeld zijn waardoor een oxygene fotosynthese mogelijk werd. Dit zou er toe geleid hebben, dat de atmosfeer met zuurstof verrijkt werd.

In het algemeen is de primaire produktiviteit in microbiële matten zeer hoog; de afbraak van het organische materiaal, is echter onvolledig. Er vindt dus een netto koolzuurbinding plaats. Dit feit is van uitzonderlijk groot belang. Door de menselijke activiteiten, zoals het op grote schaal verbranden van fossiele brandstoffen, worden enorme massa's koolzuur in de atmosfeer afgegeven. Dat de koolzuurconcentratie in de atmosfeer niet wezenlijk is gestegen, betekent dat er ergens een lek voor koolzuur moet zijn. Gelaagde microbiële ecosystemen kunnen als zodanig functioneren.

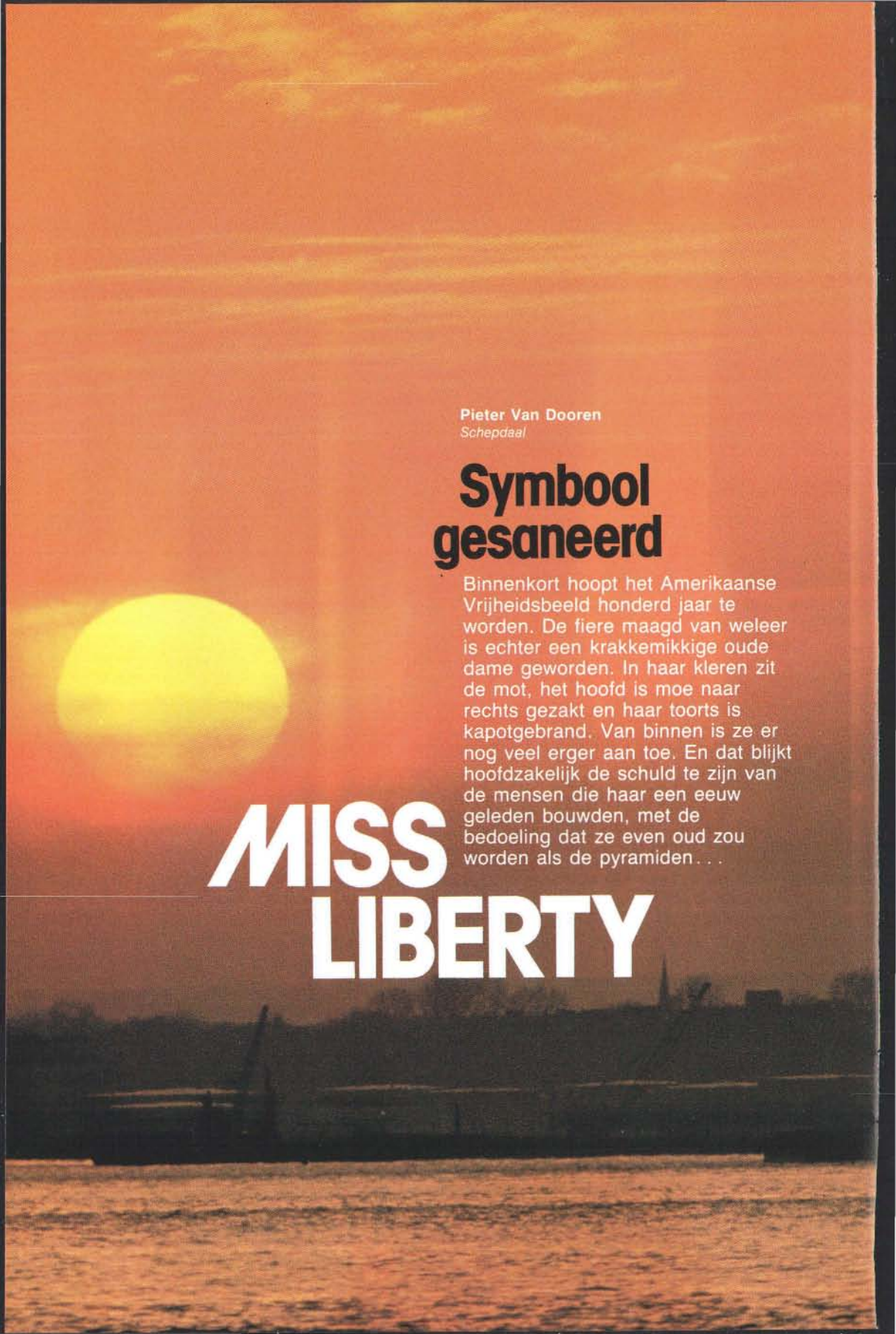


Literatuur

- Cadée, G.C., (1978). *Voedselproductie in de Waddenzee*. Natuur en Techniek 46, pag. 730-749.
 Vosjan, J.H., (1979). *Microbiologische afbraak in de Waddenbodem*. Natuur en Techniek 47, pag. 232-247.
 Abrahamse, J., Joenje, W., van Leeuwen-Deelt, N. (red.), (1976). *Waddenzee. Natuurgebied van Nederland, Duitsland en Denemarken*. Landelijke Vereniging tot Behoud van de Waddenzee, Vereniging tot Behoud van Natuurmonumenten in Nederland.

Bronvermelding illustraties

Dr. Uwe Muusz, Altenholz: pag. 874 boven.
 De overige illustraties zijn afkomstig van de auteurs.



Pieter Van Dooren

Schepdaal

Symbool gesaneerd

Binnenkort hoopt het Amerikaanse Vrijheidsbeeld honderd jaar te worden. De fiere maagd van weleer is echter een krakkemikkige oude dame geworden. In haar kleren zit de mot, het hoofd is moe naar rechts gezakt en haar toorts is kapotgebrand. Van binnen is ze er nog veel erger aan toe. En dat blijkt hoofdzakelijk de schuld te zijn van de mensen die haar een eeuw geleden bouwden, met de bedoeling dat ze even oud zou worden als de pyramiden...

MISS LIBERTY



Beeld in problemen

Het begon in mei 1980. Twee alpinisten uit San Francisco beklommen het Vrijheidsbeeld, in naam van de vrijheid. Niet de Vrijheid als idee, maar vrijheid voor een Black Panther die in de gevangenis zat. De autoriteiten waren doodsbang voor schade aan hun nationale trots. De National Park Service, sedert de jaren dertig eigenaar van het monument, liet een gedetailleerde inspectie uitvoeren waarvoor röntgenfluorescentie ingezet werd.

De experts kwamen tot een pijnlijke conclusie: Miss Liberty, symbool van het Amerikaanse vrijheidsideaal en trots van de New-yorkse haven, is dringend aan een opknappbeurt van zo'n dertig miljoen dollar toe. De Franse en Amerikaanse ingenieurs die de voorbereidende studies deden, ontdekten ook tot hun verbijstering dat het bijna honderdjarige beeld veel montagefouten heeft en op onvoorstelbare manier in elkaar geklungeld is.

Geboorte van een beeld

Op 26 oktober 1986 zal het Vrijheidsbeeld een eeuw oud zijn. Het houdt nog steeds zijn toorts op 92,96 m boven de oceaan, maar het is moe. Het hoofd is opzij gezakt; een punt van de diadeem is al in de arm gedrongen. In de 2,5 mm dikke koperen mantel zit de mot.

Het beeld was een geschenk van Frankrijk aan de Nieuwe Wereld en meteen een duwtje op het Engelse eksterroog. Het werd ontworpen door Frédéric Auguste Bartholdi, een man met meer ambitie dan genie. Hij koos, na een bezoek aan Amerika, als enig mogelijke plaats een eilandje in de haven van New York, Bedloe's Island (in 1956 omgedoopt tot Liberty Island).

Hij maakte eerst een kleimodel van 1,20 m, waarbij zijn moeder model stond voor het gezicht. Het model werd in drie stappen opgeschaald, totdat de neus even groot was als het originele beeld. Daarna werd het in 300 secties verdeeld, die elk uit negenduizend aparte metingen hun definitieve vorm kregen. Daarvan maakte men de houten mallen waarin de roodkoperen platen gedreven werden.

Bartholdi had geen idee hoe hij moest voorkomen dat zijn reusachtige holle schepping in elkaar zakke, laat staan bij storm. Daarvoor werd de hulp ingeroepen van de beroemde ar-



chitect Viollet-le-Duc, bekend van zijn restauraties aan de gotische kathedralen en zijn bijdrage aan de herwaardering van de gotiek in de vorige eeuw. Hij wou het hele gevaarte vullen met zand, maar stierf voor het zover was.

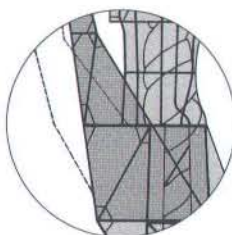
Gelukkig werd toen beroep gedaan op een 47-jarige ingenieur, nog niet beroemd maar wel geniaal: Gustave Eiffel. Om de honderd ton koper van Bartholdi overeind te houden, vond hij eenvoudigweg de wolkenkrabber uit: een structuur die niet zelfdragend is, maar zijn stevigheid ontleent aan een inwendig geraamte. Hij ontwierp een gigantische pyloon van ijzer, bestaande uit vier leden die onderling door dwarsbalken en Sint-Andreaskruisen verbonden waren. Aan de voet 5,30 x 4,20 m, bovenaan nog 1,20 x 1,80 m. Aan deze ruggegraat werd de rest van het geraamte bevestigd, dat dan weer de buitenkant droeg.

Eiffel ontwierp zijn geraamte niet stijf, maar soepel, zodat de top heen en weer beweegt in de wind (eveneens als bij zijn toren). Hij vroeg Bartholdi om de arm te wijzigen, zodat diens geraamte stevig op de centrale pijler zou steunen. Aan het skelet werd een netwerk van 1200 metalen linten van 5 cm bij ruim 1 m bevestigd, die de vorm van de 'huid' volgen. Aan de huidplaten werden platte beugels ge-

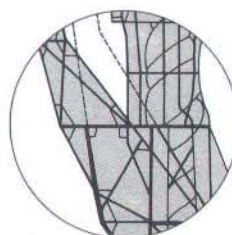


Boven: Men gebruikte een houten geraamte van het beeld om de roodkoperen platen te maken die de 'huid' van het beeld moesten vormen. Deze foto werd in de studio's van Bartholdi in Parijs gemaakt.

Rechts: Fig. 1. De arm van het beeld was in het plan van Eiffel goed gesteund. Toen men echter bij de oprichting van het beeld het hoofd te veel opzij zette, moest de arm wijken, zodat de arm met veel ijzer toch aan de centrale pyloon werd 'geplakt'.



Eiffel's plan



Bestaande schouder

klonken, die over de metalen banden pasten. Op die wijze werd het beeld dus aan het geraamte opgehangen, op een manier dat het nog kon 'werken'.

De oprichting

In 1884 werd alles in Parijs in elkaar gezet: het werkte perfect (zeggen de Fransen, volgens de Amerikanen zat het toen al fout). Dan werd het in 214 kisten naar New York verscheept aan boord van de kruiser Isère. Eiffel zelf ging niet mee. Hij was al begonnen aan zijn toren, waarvan de bouw het volgende jaar moest starten.

Er was aanvankelijk bitter weinig be-

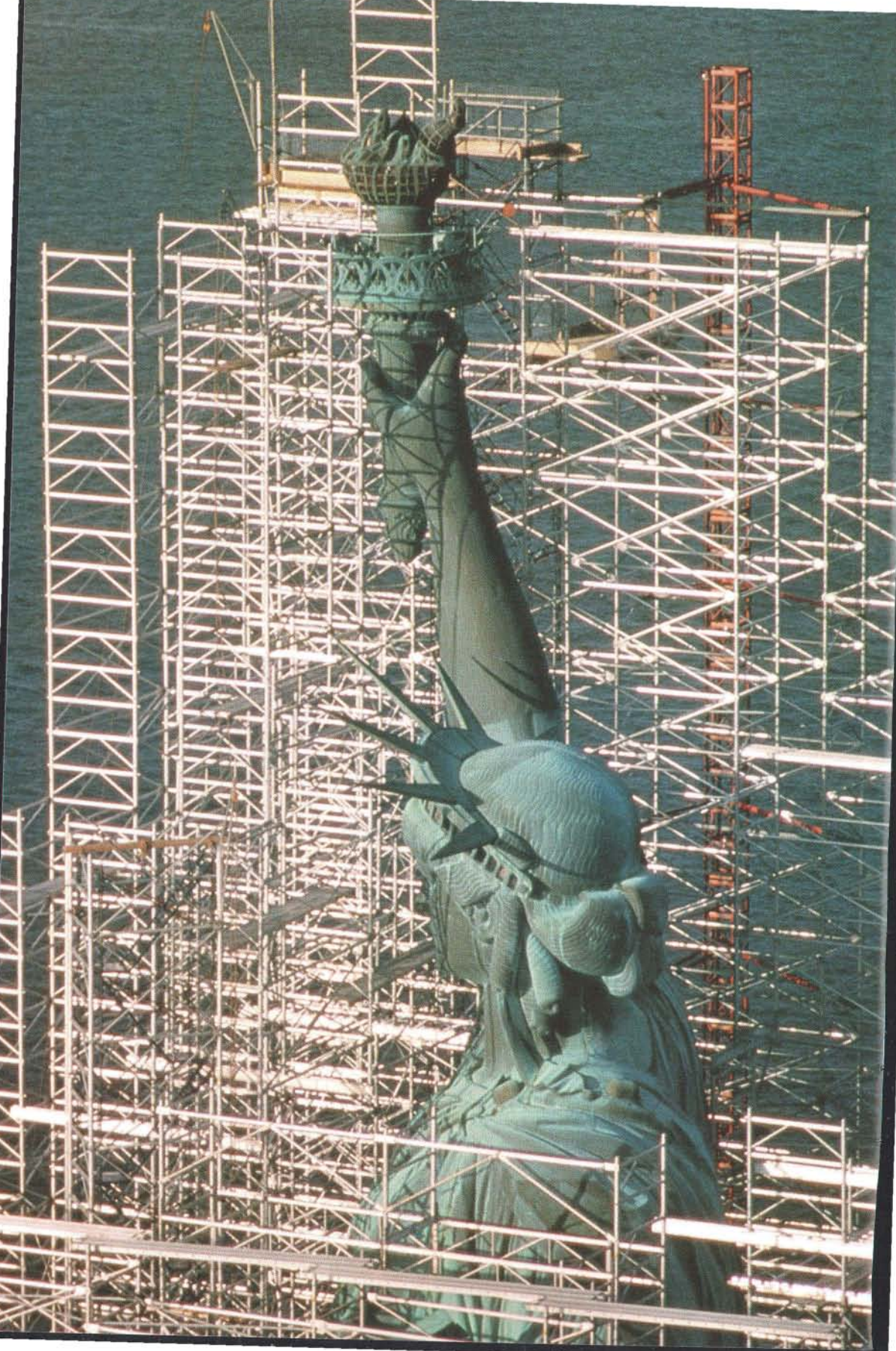
langstelling in Amerika voor het cadeau. Het congres had het geschenk aanvaard, op voorwaarde dat het de staatskas geen cent kostte. Pas toen de beroemde journalist Joseph Pulitzer in 1885 een kruistocht voor donaties begon, kwam er wat los. Het voetstuk kwam klaar, met erop een deel van het door Pulitzer bekend gemaakte gedicht van Emma Lazarus: "Give me your tired, your poor, your huddled masses yearning to breathe free, the wretched refuse of your teeming shore."

Intussen was de directeur van de Franse firma die het beeld gemaakt had, Gaget, begonnen met de verkoop van mini-beeldjes aan het publiek. Hij hield aan zijn (toen) originele idee een aardige stuiver over en zijn naam werd ver-
eeuwigd in het woord 'gadget', een woord dat Franse puristen nu ironisch genoeg als 'franglais' uit hun taal proberen te bannen.

Wie het beeld uiteindelijk in Amerika monteerde weet men niet goed, maar het is duidelijk een illustere onbekende geweest.

Reus op lemen voeten

Het beeld lijkt inwendig wel op een bouwdoos die zonder gebruiksaanwijzing in elkaar gezet is. Het hoofd, dat had moeten rusten op de verbinding tussen de vier opgaande pijlers, staat een halve meter naar rechts en steunt slechts op één van de vier pijlers. Daardoor moest de arm ook opzij en kwam helemaal vrij te hangen. Het hoofd en de arm werden met een hoop ijzerwerk, waarvan veel totaal nutteloos, toch nog met de centrale pyloon verbonden (zie fig. 1). In 1940 heeft men de bevestiging van de arm moeten verstevigen, maar ook dat bleef lapwerk. Het hoofd is nu al 30 cm naar rechts gezakt.

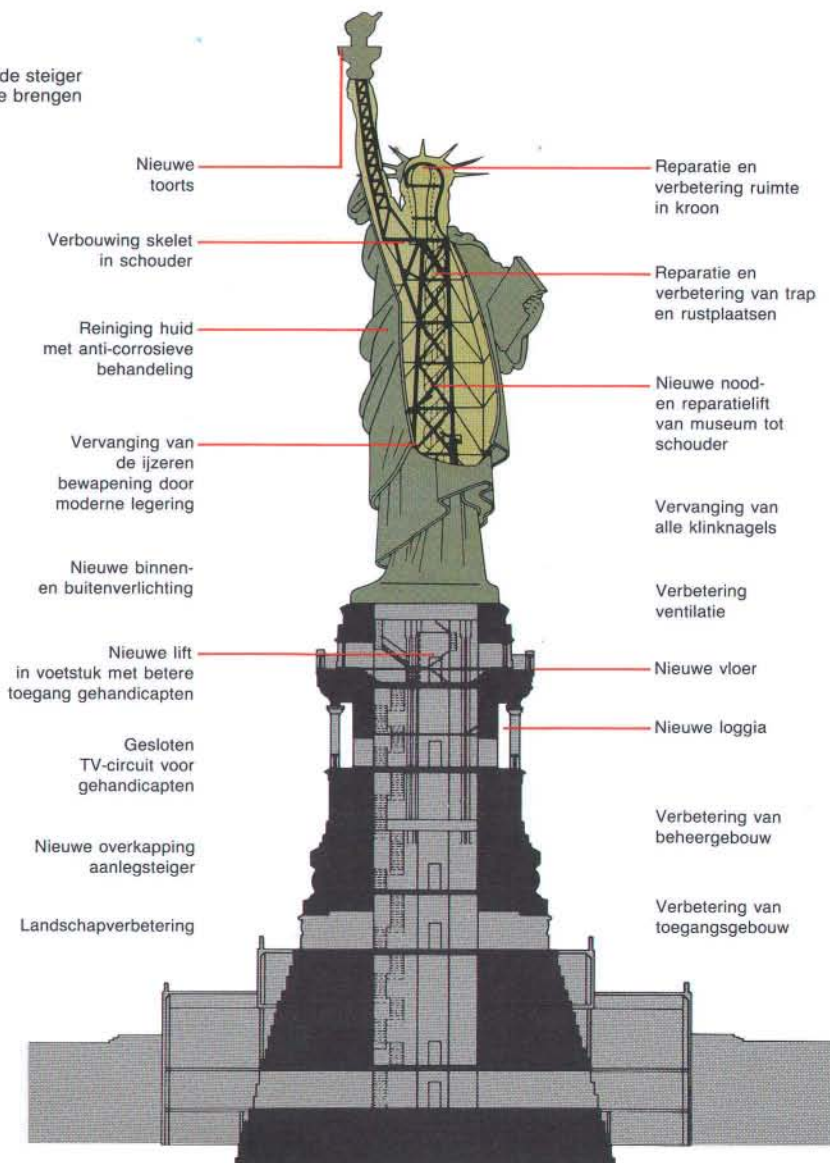


De centrale pyloon zelf werd ook al scheef gemonteerd, waardoor het geraamte natuurlijk ook niet meer goed paste. Men moest extra verankeringen improviseren, die allerlei niet voorziene krachten gingen uitoefenen. De beugels op de huidplaten moesten voor een groot deel herplaatst worden. In de originele gaten begon de corrosie.

De grootste schade ontstond echter door een beoordelingsfout van Eiffel. Hij was zich bewust dat in de vochtige zoute atmosfeer een

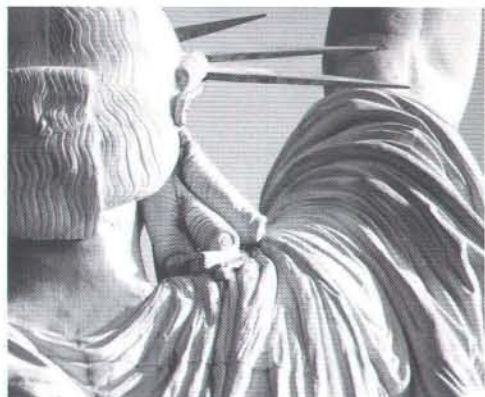
elektrochemische reactie zou starten tussen de koperen huid en het ijzeren draagstel, waardoor het ijzer snel zou oxyderen. Daarom hield hij beide van elkaar weg, volgens de een met in vet gedrenkt vilt, volgens de ander met schellak en asbest. In ieder geval heeft het de tand des tijds niet doorstaan. Door het roesten verdertenvoudigden de ijzeren banden in volume, waardoor ze op vele plaatsen de klinknagels dwars door het koper heen losscheurden.

Links het beeld in de steiger en rechts de aan te brengen verbeteringen.

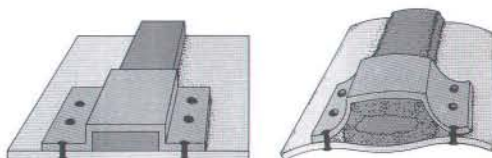


Rechts: Een kijkje van binnen op middel-niveau. Een onderzoeker gaat de conditie na van de dwarsbalken. Voor zo'n onderzoek moet je wel bijna bergbeklimmer zijn omdat een trap er naar toe ontbreekt.

Onder: Hier is goed te zien dat een van de doornen van de kroon in de arm gedrongen is, doordat het hoofd scheefzakt.



Rechts: Door het optreden van roest neemt ijzer in volume toe, zodat de banden losscheuren van de platen. Al deze banden zullen vervangen worden en ook zal men 'oud' uitzijnde klinknagels gebruiken opdat de restauratie zo goed mogelijk zal worden.



Onachtzame behandeling

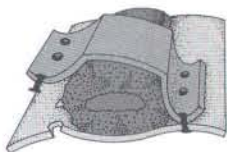
Bovenop dit alles komen nog eens de latere wijzigingen. Rond de eeuwwisseling begon het elektrische licht aan zijn zegetocht. Gutzon Borglum, beroemd van zijn gigantische profielen van presidenten, uitgehakt in Mount Rushmore, werd ingeschakeld. Hij haalde in 1916 zoveel mogelijk koper uit de vlam van de toorts weg, om die van binnenuit te verlichten. De warmte van de lampen geeft onvoorziene thermische belasting voor de koperplaten. Langs de vensters komt regen binnen, die langs de arm afloopt. Bovendien is de huidige regen zuur.

Men liet het publiek toe (tot 2500 man op piekdagen), waarvoor men rustplatforms installeerde op verschillende niveaus rond de wenteltrap van 171 treden. Dat betekent extra gewicht en extra vibraties, zeker in de arm.

Door het vocht, de adem en de transpiratie van de bezoekers is het ijzer in het (onverluchte) beeld elk morgen met een rood roestlaagje bedekt. Van de voorspelling van Bartholdi, dat het beeld met wat zorg zo lang kon leven als de pyramiden, is dus niet veel over.

Restauratie

De restauratie zal dertig miljoen dollar kosten. In Amerikaanse stijl reserveert men ook alvast twintig miljoen voor de festiviteiten als de restauratie een feit is. Een comité, onder leiding van Chrysler-baas Lee Iacocca, zoekt evenwel nog honderdtachtig miljoen dollar meer. Het grootste deel gaat naar de gelijktijdige restauratie van het historische immigratiecentrum op het nabijgelegen Ellis Island. Het Vrijheidsbeeld was het eerste dat de immigranten van het beloofde land zagen. Alles wordt,



net als een eeuw geleden, uit giften betaald. Er is al vijfenzeventig miljoen binnen.

Men heeft al een steiger van driehonderd ton aluminium rond het beeld gebouwd, zodat nu de vrijheid even gekooit is. De toorts is al weggehaald om vervangen te worden. De nieuwe zal, zoals de originele, vensterloos zijn. De vlam wordt eerst vernikkeld en dan met bladgoud bedekt. 's Nachts zal ze met halogeenlampen van buitenaf verlicht worden.

De rest wordt niet vervangen, maar gerestaureerd. De Amerikanen hebben een korte eigen geschiedenis en nog minder eigen cultuur, zodat ze bijna religieus bezorgd zijn over hun historische monumenten. De paar platen die vervangen moeten worden en zelfs de klinknagels zullen in ieder geval eerst het gepatenteerde uiterlijk van de andere krijgen.

Het gebinte, vooral van de schouder, moet ontdaan worden van fouten en zo dicht moge-

lijk weer de bedoelingen van Eiffel benaderen. Een van de problemen daarbij is dat er toen niet met staal gewerkt werd, maar met een voorloper daarvan, puddelijzer. Dat bevat veel onzuiverheden, vooral sulfiden en oxiden, en heeft andere mechanische eigenschappen. Men zal nu waarschijnlijk ferrallium gebruiken. Een computer is ingezet voor de nodige mechanische analyse, volgens de rekenmethode van de eindige elementen. Die werd oorspronkelijk ontwikkeld voor de verovering van de maan.

De 1200 banden van het eigenlijke draagstel, waarvan geen twee dezelfde vorm hebben, zullen per paar tegelijk vervangen worden, om de stabiliteit van het beeld niet in gevaar te brengen. Ze zullen van roestvrij staal dat niet elektrochemisch met koper reageert gemaakt zijn. Ter plaatse van de beugels zullen ze met Teflon bedekt worden, om de wrijving te verlagen. Men zal ze op de oude moeten namaken, want Eiffels tekeningen gingen in 1900 bij een brand verloren.

De huidplaten worden aan de buitenkant schoongemaakt met een zacht detergent, maar verder met rust gelaten. Aan de binnenkant zullen oude verf, teer en aangekoekt vuil met vloeibare stikstof 'weggevroren' worden en vervangen door een roestwerende laag.

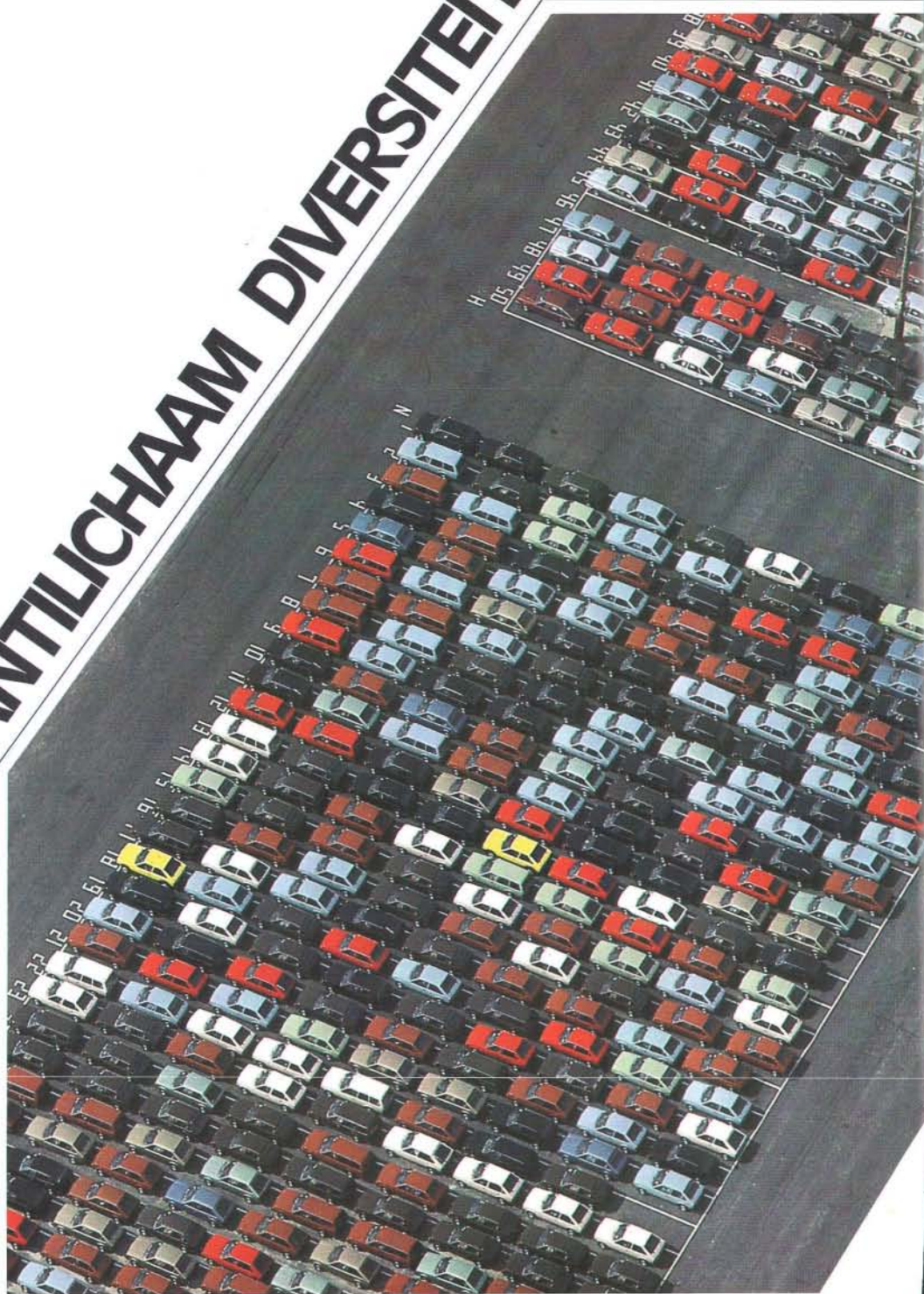
De wenteltrap voor de toeristen krijgt een nieuwe reling en extra rustplatforms. De lift uit 1950 wordt vervangen en er komt een noodliftje voor onderhoud en afvoer van flauwgevallen bezoekers. In de zomer kan het binnen in het beeld een echte oven zijn. Daarom zal er ook airconditioning aangelegd worden. Ook de uitkijkzaal ter hoogte van de zevenpuntige diadeem, die veertig mensen kan bevatten, wordt gerestaureerd.

Als alles goed gaat moet tegen 4 juli 1986, bij de tweehonderdtiende verjaardag van de Amerikaanse onafhankelijkheid, de oude dame weer omgetoverd zijn in een fiere maagd, die verder de wereld verlichten mag.

Bronvermelding illustraties

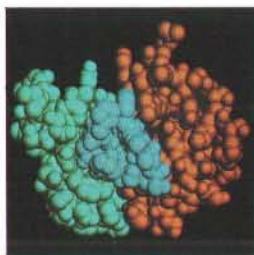
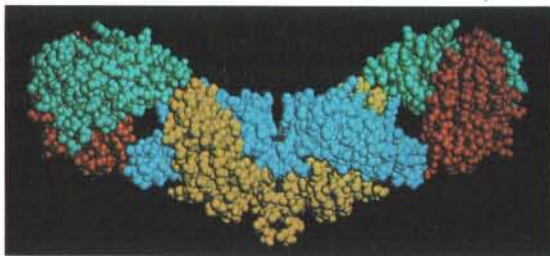
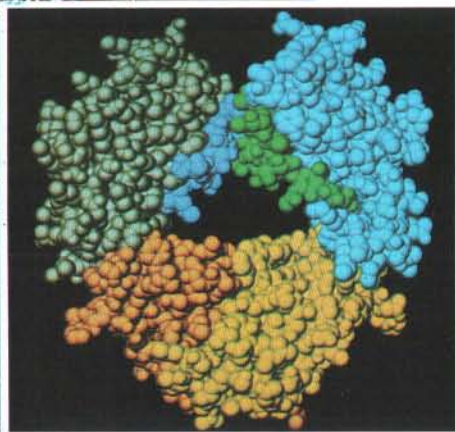
Andrew Levin, Black Star/Transworld Features Holland BV, Haarlem: pag. 890-891, 894, 896, 896-897.
Carl Byoir and Associates, Inc, New York, N.Y.: pag. 892-893.

ANTILICHAAM DIVERSITEIT



Overzichtelijke genetische basis

Antilichamen spelen een belangrijke rol bij de natuurlijke afweer tegen infecties. Ze binden aan lichaamsvreemde stoffen (antigenen) en maken zo de vernietiging van de laatste door de cellen van het immuunsysteem makkelijker. Dit gebeurt heel specifiek. Aan elk antigeen binden andere antilichamen. Het immuunsysteem moet dus over een grote antilichaamdiversiteit beschikken om de verdediging tegen een vrijwel onbegrensd aantal antigenen ter hand te kunnen nemen. Hoe is het lichaam in staat zo'n gigantisch aantal antilichamen te maken? Hoe is het mogelijk dat de informatie voor een bijna



Verschillende kleuren en verschillende modellen van steeds dezelfde auto: de autokoper kan precies uitzoeken wat hij nodig heeft. Antilichamen worden eveneens op maat gemaakt, om aan indringers (geel-oranje op de bovenstaande eiwitmodellen) het hoofd te kunnen bieden.

eindeloze reeks antilichamen ligt opgeslagen in slechts een paar chromosomen? Dit is de paradox van de antilichaamdiversiteit. Vanaf het ontstaan van de immunologie worden onderzoekers door dit mysterie geïntrigeerd. Pas de laatste jaren is hierin door imposant onderzoek klaarheid gekomen. Dit onderzoek werd vorige maand met een Nobelprijs voor de Deen Jerne bekroond. In dit artikel wordt uiteengezet hoe de informatie voor miljoenen, misschien zelfs miljarden antilichamen ligt opgeslagen in slechts een paar honderd genen.

De eerste theorieën

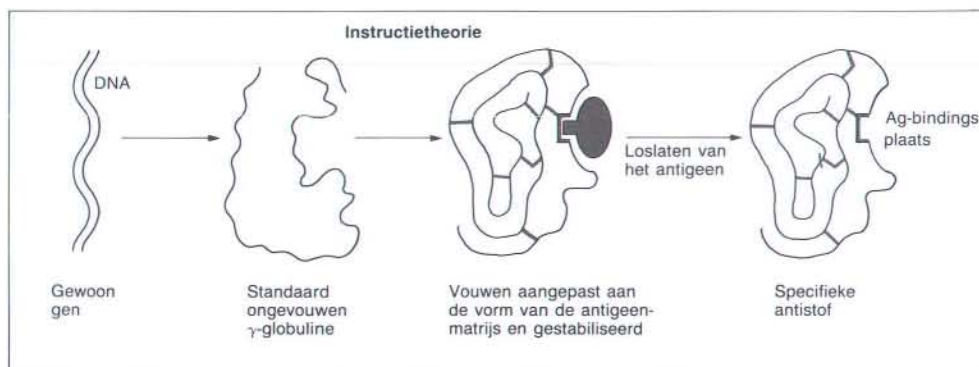
De geschiedenis van de immunologie in onze eeuw verschaft een goed inzicht in de evolutie van het denken over antilichaamdiversiteit. Die geschiedenis begint in het jaar 1900, toen Ehrlich het *complementariteitsprincipe* poneerde. Het antilichaam herkent het antigeen door complementariteit van hun oppervlakken, zoals een sleutel in een slot. In 1926 ontdekten Felton en Bailey dat antilichamen eiwitten zijn. Enkele jaren later (1930) werd de *instructietheorie* geponeerd. Deze theorie stelt het antilichaam voor als een aminozuurketen zonder geordende ruimtelijke structuur. In aanwezigheid van antigeen vouwt de aminozuurketen zich om het antigeen en neemt zodoende zijn ruimtelijke structuur aan, complementair aan die van het antigeen. Het antilichaam is dus een afdruk van het antigeen, waarbij het antigeen de antilichaamstructuur heeft geïnstrueerd. Deze theorie is in strijd met alle moderne biochemische opvattingen over eiwitstructuur en is dan ook al decennia geleden van de hand gewezen (zie fig. 1).

De eerste aanzet in de goede richting werd in 1957 gegeven, toen Burnet de *klonale selectietheorie* postuleerde. Deze gaat uit van de één cel – één antilichaam hypothese, die stelt dat elke B-lymfocyt (zie Bruning) maar één type antilichamen kan maken. De klonale selectietheorie zegt nu dat het immuunsysteem beschikt over een groot aantal verschillende antilichamen, het *antilichaamrepertoire*, onafhankelijk of het wel of niet met antigenen in contact is geweest. Bij een infectie selecteert het antigeen onder de aanwezige B-lymfocyten die

cel, die het specifieke antilichaam synthetiseert. Deze cel wordt tot deling aangespoord, zodat een kloon cellen ontstaat die in groten getale specifiek antilichaam aanmaakt.

Toen in de jaren vijftig de grondbeginselen van de moleculaire biologie werden vastgelegd, kwam de vraag op hoe de informatie van de vele antilichamen in de chromosomen was opgeslagen. Eén gen voor elk antilichaam zou een eenvoudige mogelijkheid zijn. Alle antilichamen zijn dan erfelijk vastgelegd. De genen worden overgedragen op het nageslacht via de geslachtscellen of kiemlijn. Daarom wordt dit de *kiemlijntheorie* genoemd. De immunologen werden nu met een schijnbare paradox geconfronteerd. Immers, het aantal antigenen is vrijwel onbeperkt. Dit betekent een enorme informatielast voor de chromosomen. Uitgaande van deze theorie zou volgens een ruwe schatting de gezamenlijke informatie voor alle antilichamen circa vijftien procent van al het aanwezige DNA in beslag nemen. Als we ons realiseren dat ruwweg eentiende deel van het DNA voor eiwit codeert, dan wordt de kiemlijntheorie erg onwaarschijnlijk. Daarom werd gezocht naar andere mechanismen om diversiteit te genereren.

Als tegenhanger van de kiemlijntheorie ontwikkelde men de *somatische theorie*, volgens welke de diversiteit niet genetisch vastligt, maar in de lichaams- of somatische cel ontstaat tijdens celdifferentiatie. Men beredeneerde dat tijdens de differentiatie van de B-lymfocyt willekeurige mutaties in het gen (dat voor het antilichaam codeert) optreden, in iedere cel weer op een andere manier, zodat uiteindelijk iedere lymfocyt uit de populatie



een ander antilichaam maakt. De chromosomen in deze cellen dragen dan slechts de informatie voor één of enkele antilichamen. Zo stonden in de jaren zestig twee scholen tegenover elkaar: de aanhangers van de kiemlijn- en die van de somatische theorie. Veel later zal blijken, zoals wel vaker voorkomt bij een wetenschappelijke controverse, dat de waarheid ergens in het midden ligt. Beide scholen kregen een beetje gelijk.

Theorieën worden verfijnd: kennis van de eiwitstructuur

In de jaren zestig ontwikkelde het denken over antilichaamdiversiteit zich verder naarmate meer over de eiwitstructuur bekend werd (zie intermezzo I). Voor structuuropheldering vormt de heterogene populatie antilichamen een groot bezwaar. Dit werd omzeild door gebruik te maken van een bepaald ziektebeeld, *myeloma* geheten. Hierbij is een van de antilichaamproducerende cellen omgevormd tot kankercel, waardoor ongeremde deling plaatsvindt en de productie van één type antilichaam overheerst. De L-keten (zie intermezzo I) wordt overgeproduceerd en in hoge concentraties in de urine uitgescheiden. Deze ketens worden 'Bence Jones eiwitten' genoemd, naar hun ontdekker Bence Jones in 1848. Juist van deze eiwitten werden voor het eerst de aminozuurvolgorden bepaald.

Gewapend met deze kennis, met name van de onderlinge verschillen van antilichamen, kon men verder speculeren over het diversiteitsvraagstuk. De ontdekking van *constante* en *variabele domeinen* in de antilichaammole-



In deze elektronenmicroscopische opname is een DNA-molecule ongeveer 10000 keer vergroot. Op deze draadvormige molecule is een aantal genen aanwezig. Chromosomen bestaan uit gigantische DNA-moleculen die zijn opgerold tot een zeer dicht kluwen. De opname toont een voorbeeld van een kleine circulaire DNA-molecule, plasmide geheten, die bij recombinant-DNA-technieken wordt gebruikt (zie intermezzo II).

culen (zie intermezzo I) leidde in 1965 tot de 'Dreyer-Bennet-hypothese'. Deze onderzoekers veronderstelden op het DNA één C-gen, dat codeert voor het constante domein en vele V-genen, voor elk variabel domein één. In de antilichaamproducerende cel zou het C-gen dan gecombineerd worden met één van de vele V-genen en zo een compleet gen voor een anti-

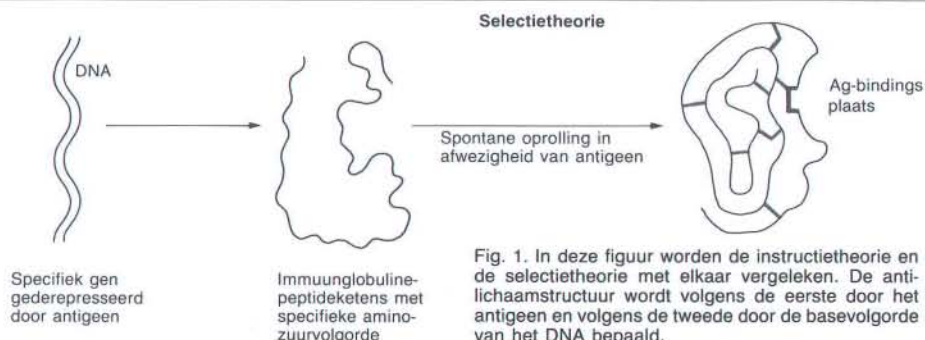
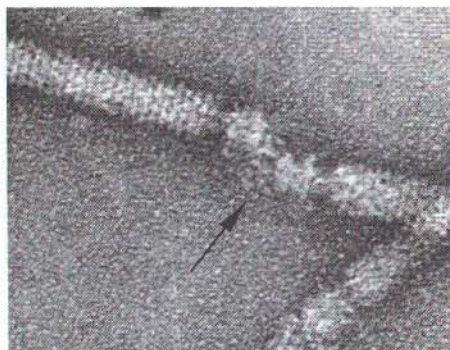


Fig. 1. In deze figuur worden de instructietheorie en de selectietheorie met elkaar vergeleken. De antilichaamstructuur wordt volgens de eerste door het antigeen en volgens de tweede door de basevolgorde van het DNA bepaald.

Antilichaamstructuur

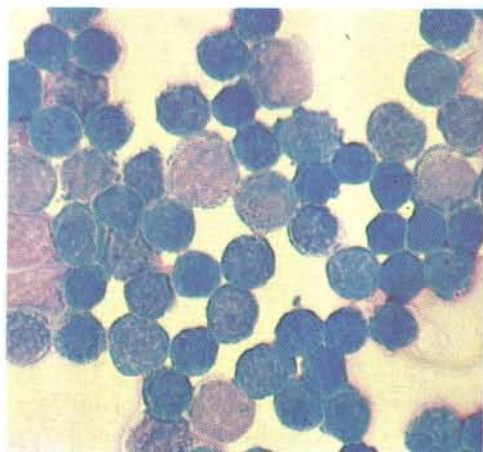
Antilichamen, ook immuunglobulinen genoemd, zijn opgebouwd uit twee zware (H) en twee lichte (L) aminozuurketens. Deze zijn onder andere door zwavelbruggen met elkaar verbonden (fig. 1-1). Ruwweg neemt het antilichaam de vorm van de letter Y aan. Deze vorm is een afspiegeling van de twee functies die het molecuule in zich verenigt. De twee identieke armen hebben de functie met hun uiteinden het antigeen te binden, terwijl de voet van de Y dient om het elimineren van het antigeen te vergemakkelijken. De voet wordt herkend door de cellen van het immuunsysteem, die hierdoor gemakkelijker op het antigeen kunnen aanvallen.

De aminozuurvolgorde aan het eind van de armen varieert sterk, omdat elk antigeen weer door andere antilichamen wordt herkend. De aminozuurvolgorde van de voet van het antilichaam kent maar weinig variaties omdat het lichaam maar weinig manieren kent om het antilichaam-antigeencomplex te elimineren. Elke keten bezit dus een *variabel* (V) en een *constant* (C) deel. De aminozuurketens zijn op een speciale manier opgevouwen en geven het antilichaam een ruimtelijke structuur. In die structuur zijn bepaalde structurele eenheden te onderscheiden, *domeinen* genaamd (fig. 1-2). Elke L-keten wordt in twee en elke H-keten in vier domeinen onderverdeeld, waarbij steeds het laatste domein aan de arm het variabele domein wordt genoemd. Zo onderscheiden we het VL, CL, VH, CH1, CH2 en CH3 domein.



Op deze elektronenmicroscopische opname van fragmenten van een bacterievirus met antilichamen is de vorm van het antilichaam zichtbaar (pijl).

Alle domeinen vertonen een opvallende overeenkomst in ruimtelijke structuur. Ook de aminozuurvolgorden zijn in sterke mate homoloog. Als reden wordt aangenomen dat de domeinen van één gemeenschappelijke voorouder afstammen. Aanvankelijk bevatte het chromosoom het gen van één domein. Door een proces dat *genduplicatie* heet, ontstond een herhaling van dit gen en bijgevolg ook een herhaling van domeinen in de antilichaamstructuur. Door verdere duplicatie gingen de genen voor de L-keten zich onderscheiden in twee klassen, κ en λ , en die van de H-



lichaam, een zogenaamd *immuunglobulinegen* vormen (ook wel twee-gen model genoemd). Een variant op deze hypothese is het 'minigen'-model, volgens welk er vier FR- en zeer veel CDR-minigenen (zie intermezzo I) bestaan. Verschillende combinaties van de C- en FR-genen met telkens drie CDR-minigenen vormen dan een immuunglobulinegen. Deze combinaties moeten in de somatische cel plaatsvinden. Zo treedt begin van de jaren zeventig differentiatie op in de somatische theorie. Diversiteit kan dan niet alleen verklaard worden door het mutatiemodel, maar ook door het twee-gen model (V-C) of door het minigenmodel. Het ware antwoord moest volgen uit een studie van de structuur van de genen (fig. 2).

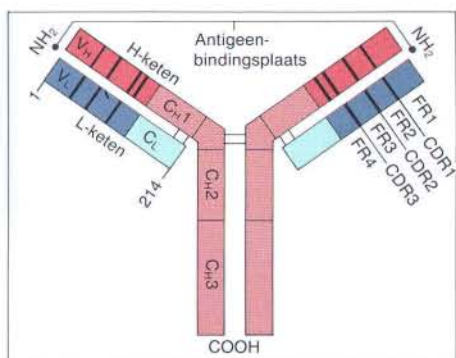


Fig. I-1. De basisstructuur van een antilichaam: de specificiteit van de antigeen-bindingsplaats wordt bepaald door de CDR's die per antilichaam sterk verschillen.

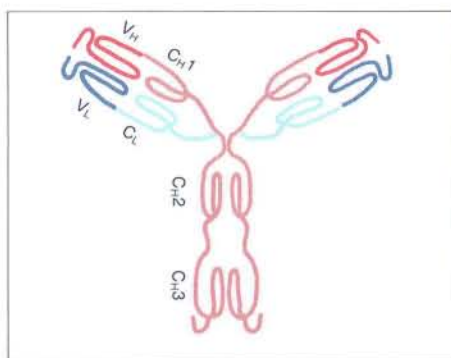
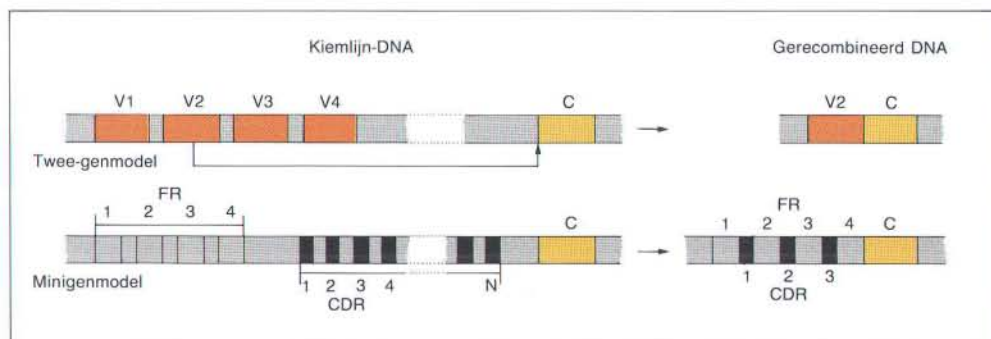


Fig. I-2. De aminozuurketen opgevouwen in domeinen. De domeinen van het variabele deel zijn met donkerrood en donkerblauw aangegeven.

keten in vijf klassen, μ , δ , γ , ϵ en α , die coderen voor de vijf immunoglobulineklassen IgM, IgD, IgG, IgE en IgA.

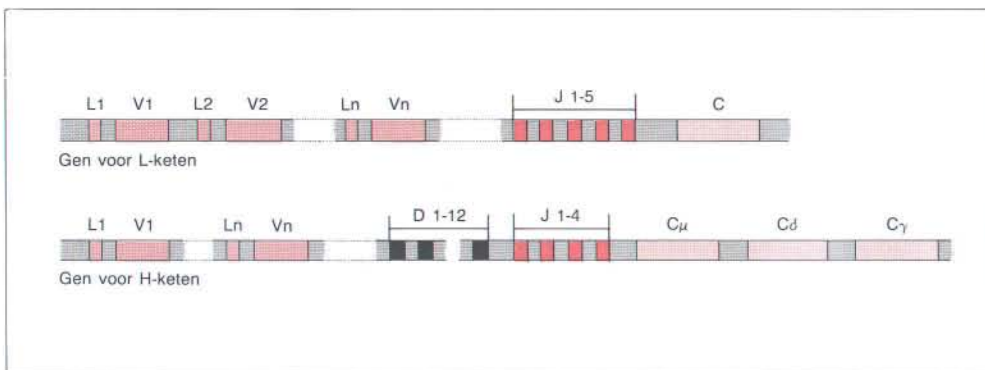
Bij de eerste prikkeling door antigeen, de primaire respons, wordt het gen voor het V_H -domein gecombineerd met het C_μ -gen en ontstaat een IgM-antilichaam. Bij de secundaire respons vindt een klasseovergang plaats. Door een zogenaamd somatisch recombinatieproces wordt het gen voor V_H niet met het C_μ maar met het C_γ -gen gecombineerd, waardoor een IgG-antilichaam ontstaat.

Naast de structurele overeenkomsten bestaan in het variabele domein ook verschillen waaraan het antilichaam haar specificiteit ontleent. Deze verschillen zijn geconcentreerd in drie gebiedjes van de keten, die men CDR's noemt (*Complementarity Determining Regions*). In het V-domein is de keten zodanig gevouwen dat deze CDR's ruimtelijk dicht bij elkaar liggen aan het eind van de arm en de antigeen-bindingsplaats vormen. De tussenliggende gebieden worden FR's (*Frame Regions*) genoemd, omdat ze zorg dragen voor de globale domeinstructuur.



Links: In deze lichtmicroscopische opname van lymfocyten is niet te zien of de cellen antilichamen produceren. Dit kan men wel met fluorescentiemicroscopie waarnemen. De cellen hebben een afmeting van enkele micrometer (duizendste millimeter).

Boven: Fig. 2. In deze figuur worden het twee-gen- en mini-gen-model met elkaar vergeleken. Volgens deze modellen vinden tijdens differentiatie herrangschikkingen van het DNA plaats, die de genfragmenten nodig voor een compleet immunoglobulinegen bij elkaar brengen.

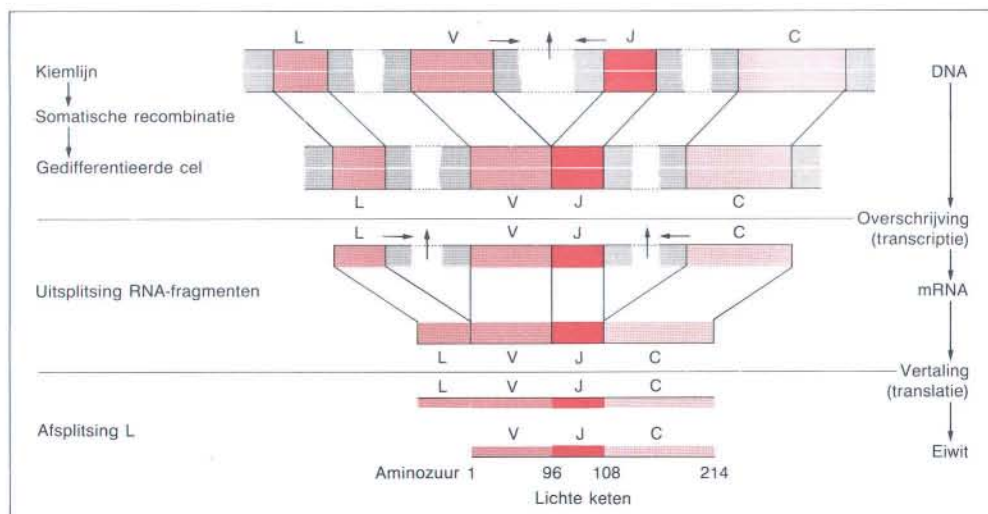


Nieuwe technische vooruitgang: genstructuur

De doorbraak in de opheldering van het diversiteitsprobleem kwam in de jaren zeventig. Die opheldering werd ingeluid door de ontwikkeling van een aantal nieuwe technieken die het mogelijk maken om genen op het DNA te herkennen en de structuur ervan te bepalen. Enkele van deze technieken worden in intermezzo II toegelicht. De technische ontwikkelingen culmineerden in 1977 in snelle methoden om DNA-basevolgorden te bepalen. Hieraan zijn de namen Gilbert, Maxam en Sanger verbonden. Direct na het beschikbaar komen van deze methoden volgde een serie revolutionaire vindingen, omdat men nu in staat was de

aminozuurvolgorde van het antilichaam met de basevolgorde van het gen te vergelijken.

Men ging aan de slag om de DNA-structuur van de ongedifferentieerde cel, namelijk die van een jong muize-embryo, te vergelijken met de DNA-structuur van de volledig gedifferentieerde antilichaamproducerende B-lymfocyt. Voor deze laatste werden muize-mylomacellen genomen, die men gemakkelijk in grote hoeveelheden kon krijgen. Als eerste werd de genstructuur van de L-keten van het κ -type opgehelderd, een wetenschappelijk hoogstandje met name van de Japanner Tonegawa en de Amerikaan Leder. Later zal blijken dat voor de mens weliswaar enkele details verschillen, maar de principes gelijk zijn.



Links: Fig. 3. In dit overzicht van de complete genstructuur van de κ -lichte keten en zware keten in de ongedifferentieerde cel bij de muis zijn genfragmenten met gekleurde blokjes aangegeven. De lengte van de blokjes geeft ruwweg de lengte van het fragment aan. Voor zowel de L- als de H-keten komen enkele honderden L-V-combinaties voor. De afstanden tussen het V- en J-segment van de L-keten en het V- en D-segment van de H-keten zijn niet goed bekend en zijn daarom in de figuur aangegeven met een stippellijn.

De slag wordt geslagen

Het door deze onderzoekers aangetoonde principe is als volgt. De κ -lichte keten wordt gecodeerd door vier segmenten van het embryonale DNA, die onderling gescheiden zijn en die tijdens celdifferentiatie naar elkaar toe bewegen (fig. 2 en 3). Deze segmenten worden aangeduid met de letters L van Leader, V van Variable, J van Joining en C van Constant. In de gedifferentieerde cel zijn het V- en J-segment aan elkaar gekoppeld door een zogenaamd *recombinatieproces* van het DNA. Op het DNA blijven de andere segmenten gescheiden. Nu wordt van het DNA een reuzeboodschapper-RNA (mRNA) overgeschreven, dat

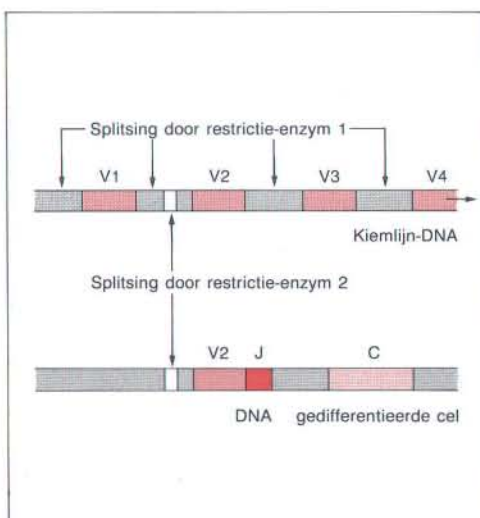
niet alleen de vier gensegmenten, maar ook de nog resterende tussenliggende basevolgorden bevat. Deze tussenliggende stukken worden pas op RNA-niveau verwijderd. Het mRNA dat dan ontstaat bevat de aaneengesloten LVJC-volgorde en wordt vertaald in een aminozuurketen. Een laatste verandering vindt plaats op 'het eiwitniveau'. Van de eiwitketen wordt het L-deel afgesplitst en het overblijvende VJC-deel vormt de intacte lichte keten. Dit principe werd als volgt aangetoond.

Het mRNA werd gehybridiseerd met DNA-restrictiefragmenten verkregen uit hetzij de embryonale, hetzij de gedifferentieerde cel (zie intermezzo II). Van de myeloma-DNA-fragmenten is er één en van de embryonale DNA-fragmenten zijn er veel die met het mRNA hybridiseren. Dit komt omdat het embryonale DNA naast een C-segment een aantal V-segmenten bevat, gelegen op verschillende restrictiefragmenten. Al deze V-segmenten zijn in mindere of meerdere mate homoloog, zodat ze met hetzelfde mRNA hybridiseren. Slechts één kan de voorloper van het mRNA, en dus van het gevormde antilichaam zijn. Dit kan men met een truc aan de weet komen.

In plaats van met het mRNA, wordt met een stukje DNA direct aansluitend aan het V-segment van het myeloma-DNA gehybridiseerd (zie fig. 5). Deze basevolgorde komt ook op het embryonaal DNA voor; en wel alleen op het fragment dat de echte V-voorloper bevat.

Links: Fig. 4. De verschillende stadia in de ontwikkeling van gescheiden genfragmenten op het embryonale DNA tot een intacte antilichammolecule zijn in deze figuur weergegeven. De herrangschikking van het DNA tijdens de differentiatie tot rijpe antilichaamproducerende cel, die leidt tot de koppeling van V- en J-segment, wordt 'recombinant' genoemd. De koppeling van L-V en J-C op het mRNA in de gedifferentieerde cel wordt 'splicing' genoemd.

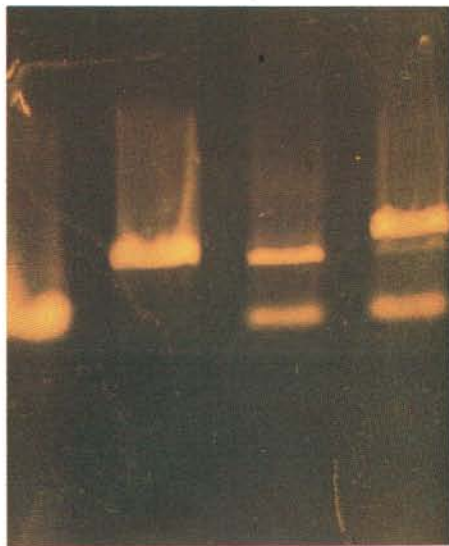
Rechts: Fig. 5. Deze figuur illustreert de opsporing van een V-segment op het embryonale DNA. Splitsing van het embryonale DNA met het restrictie-enzym 1 levert een groot aantal fragmenten, die min of meer homologe V-segmenten bevatten. Het aangrenzende DNA is echter niet homoloog. Van het DNA van de gedifferentieerde cel wordt met een ander restrictie-enzym 2 een klein fragmentje, grenzend aan V₂, afgesplitst. De dubbele streng wordt gescheiden in enkele strengen. Door hybridisatie met het enkelstrengs DNA-stukje wordt het embryonale DNA-fragment dat de V₂-voorloper bevat herkend.



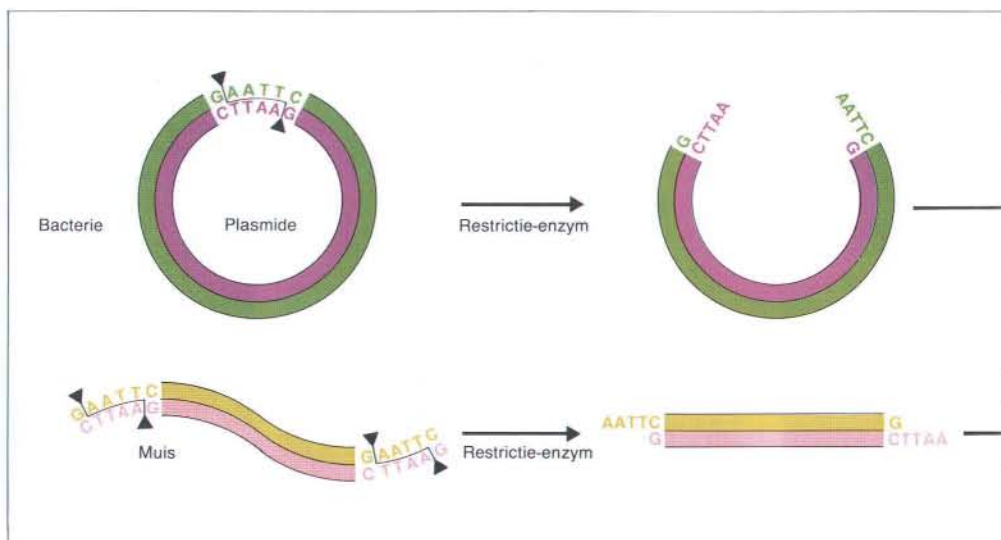
Bepaling van de genstructuur

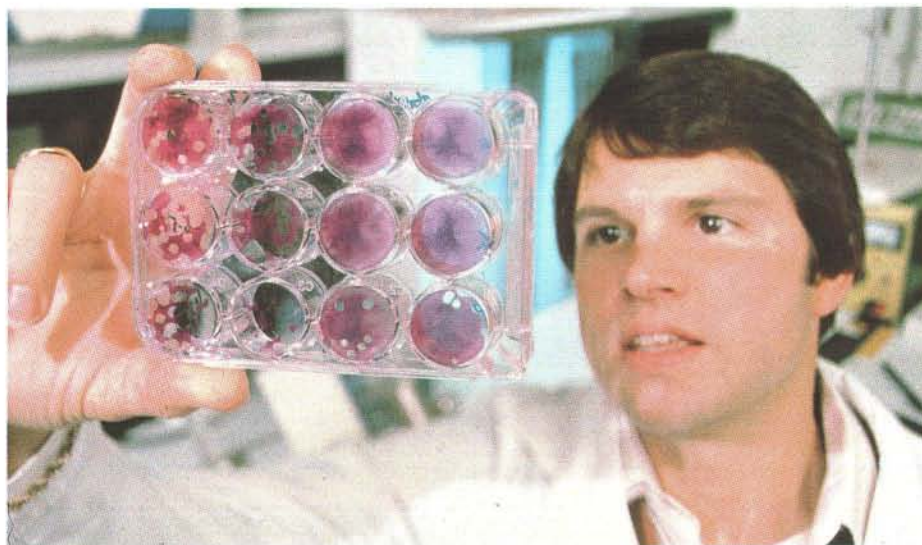
Recombinant-DNA-technieken

Deze technieken werden ontwikkeld na de ontdekking van restrictie-enzymen. Dit zijn enzymen die het DNA op specifieke plaatsen, afhankelijk van de basevolgorde, kunnen 'knippen'. Het chromosoom, behandeld met restrictie-enzymen, wordt zo gesplitst in een groot aantal restrictiefragmenten. Om hiermee verder te kunnen werken moeten ze vermeerderd worden. Dit gebeurt door ze in het genetisch materiaal van een bacterie in te bouwen en vervolgens de bacterie op te kweken (klonen, zie fig. II-1). Eerst worden circulaire DNA-moleculen, *plasmiden* geheten, uit de bacteriecellen geïsoleerd en met een restrictie-enzym opengeknipt. Vervolgens worden ze gemengd met de verzameling restrictiefragmenten, verkregen met hetzelfde restrictie-enzym. Dit laatste is belangrijk, omdat de DNA-uiteinden van plasmiden en restrictiefragmenten goed in elkaar moeten passen. Koppeling van de uiteinden vindt plaats met een ander enzym, ligase geheten. Bij de juiste experimentele omstandigheden zullen circulaire DNA-moleculen zijn teruggevormd, waarbij een aantal een restrictiefragment heeft ingebouwd. De gemodificeerde plasmiden worden weer opgenomen door bacteriecellen. Elk restrictiefragment bevindt zich nu in een andere bacteriecel. Om erachter te komen welke bacterie het gewenste



Onder: Fig. II-1. Het kloneren geschiedt volgens het volgende principe. Het plasmide, uit de bacterie, en het DNA, uit de muizecellen, worden geknipt met hetzelfde restrictie-enzym. De plasmide- en muize-DNA-fragmenten worden gemengd en aan elkaar gekoppeld. Op deze wijze kunnen circulaire DNA-moleculen ontstaan, die een stukje muize-DNA bevatten.



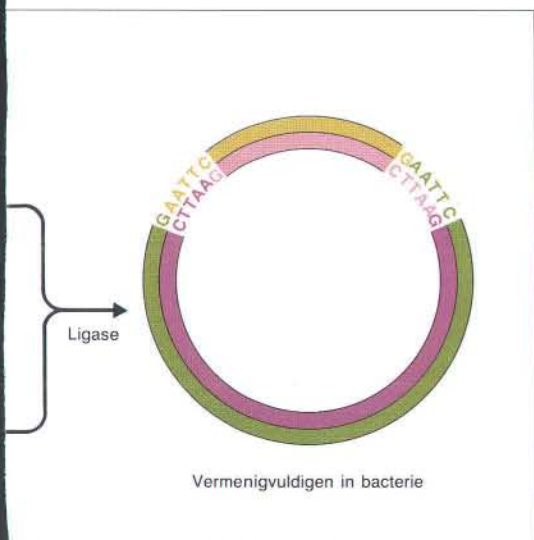


Linksboven: De basevolgorde van DNA kan bepaald worden door middel van autoradiografie. Elke vlek is een radioactief DNA-fragment, met een gegeven base aan het uiteinde.

Rechtsboven: Bij nader onderzoek van de bacterieklonen op de petrischalen blijkt dat slechts enkele

van de vele klonen het gewenste DNA-fragment van de muis bevatten. Dit kan met behulp van verschillende hybridisatietechnieken worden vastgesteld.

Onder: Op deze petrischaal met vaste voedingsbodem zijn de witte vlekken klonen van identieke bacteriecellen.



Bepaling van de genstructuur vervolg

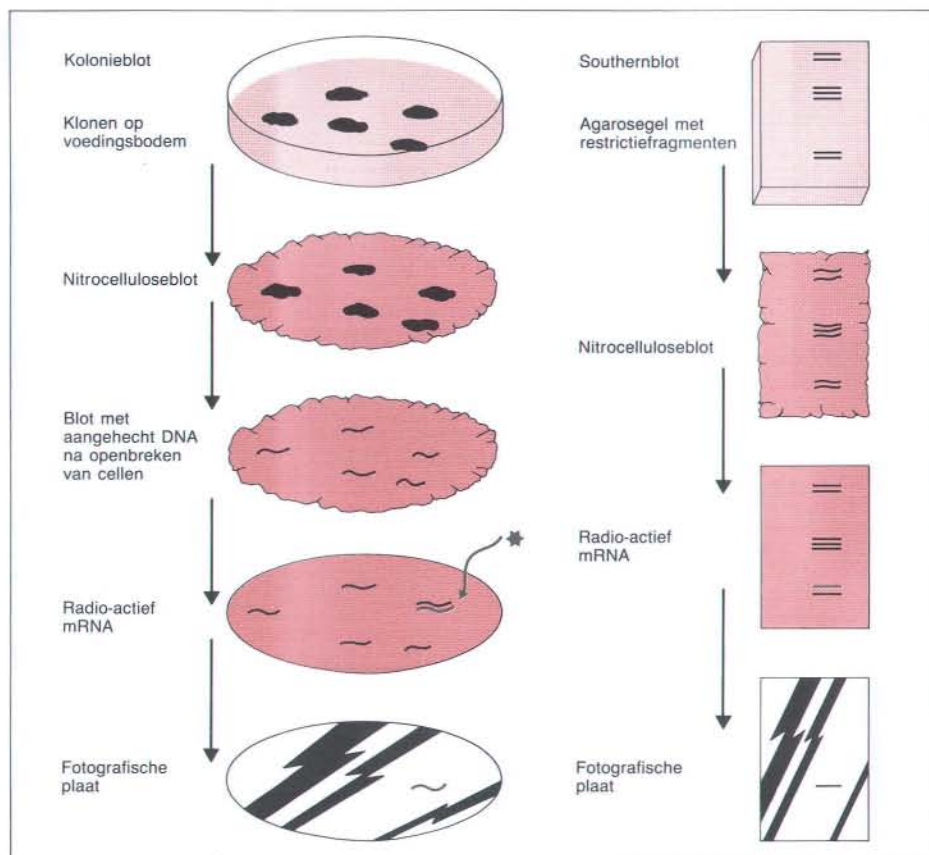
DNA-fragment bevat worden de bacteriën uitgestreken op een vaste voedingsbodem. Overal waar zich een cel bevindt, ontstaat na verloop van tijd een kolonie of kloon van identieke cellen. Door middel van hybridisatietechnieken kan de juiste kloon opgepikt worden.

Fig. II-2. Deze figuur toont het principe van enkele hybridisatietechnieken. Bij de kolonieblot wordt de hybridisatiereactie uitgevoerd op het totale cellulaire DNA en wordt uit een grote hoeveelheid klonen de gewenste opgepikt. Bij de Southern blot wordt de hybridisatiereactie uitgevoerd op restrictiefragmenten uit één kloon en wordt uit een grote hoeveelheid van zulke fragmenten de gewenste opgepikt.

Hybridisatietechnieken

De synthese van een eiwitmolecule gebeurt in twee stappen. Eerst wordt de genetische informatie van het DNA overgeschreven op boodschapper-RNA (mRNA) en vervolgens wordt het mRNA vertaald in een aminozuurvolgorde. Een antilichaamproducerende B-lymfocyt beschikt dus over het mRNA voor dat antilichaam en dit kan uit de cel geïsoleerd worden. De basevolgorde van het mRNA is complementair aan die van het gen waar het van overgeschreven is. Door baseparing kan het mRNA dus aan het gen binden. Dit noemt men *hybridiseren*.

De identificatie van de gewenste bacteriekloon gebeurt nu als volgt (fig. II-2). Met nitrocellulosefilterpapier wordt een afdruk (Engels: *blot*)



gemaakt van het oppervlak van de voedingsbodem. De aangehechte cellen worden enzymatisch opengebroken en het filterpapier in contact gebracht met radioactief mRNA. Dit hybridiseert alleen met het DNA dat het corresponderende gen bevat. Op het papier wordt een fotografische plaat gelegd (*autoradiografie*). De zwarting op de plaat geeft de plaats van de gewenste kloon aan.

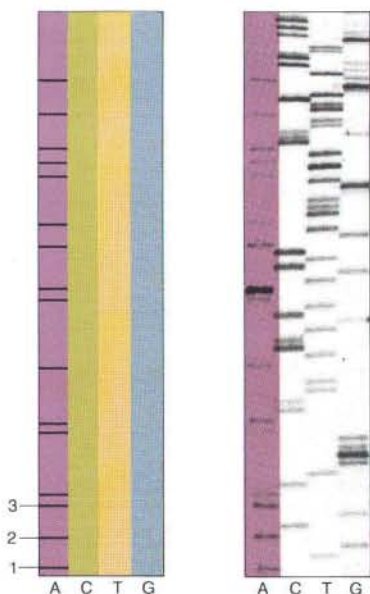
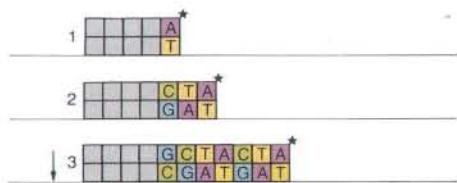
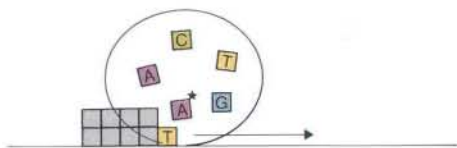


Fig. II-3. Op deze wijze ontstaat een populatie van radioactieve DNA-fragmenten met verschillende lengten en alle eindigend op een defect adenine. Op identieke wijze worden DNA-fragmenten eindigend op een defect guanine, thymine of cytosine gemaakt. Op de foto zijn de fragmenten van de vier reactiemengsels gescheiden. Door de banden in de vier banen van boven naar beneden te lezen, verkrijgt men de basevolgorde van rechts naar links in het tekenvoorbeeld.

Een variant van deze kolonieblot is de *Southern blot*. Ook deze techniek maakt het mogelijk na te gaan welk restrictiefragment een interessant gen bevat. De restrictiefragmenten worden naar grootte op een agarosegel gescheiden in een elektrisch veld. Vervolgens wordt van de gel een afdruk gemaakt op nitrocellulosepapier en met radioactief mRNA gehybriseerd. Na auto-

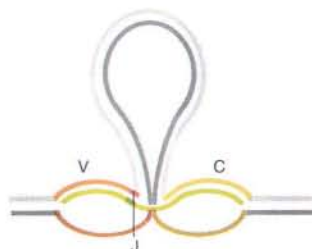
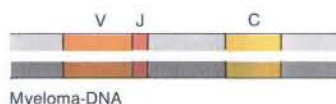
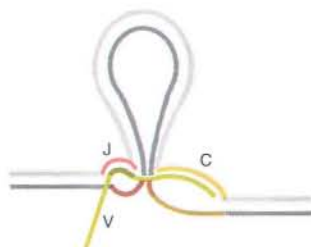
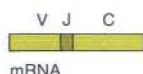
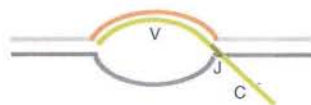


radiografie wordt de plaats van het gewenste gen zichtbaar.

De structuur van de mRNA-DNA-hybriden kan men in de elektronenmicroscopie onderzoeken met de zogenaamde *heteroduplex-methode*. Hiermee kan men de plaats en de lengte van het gen op het DNA bepalen.

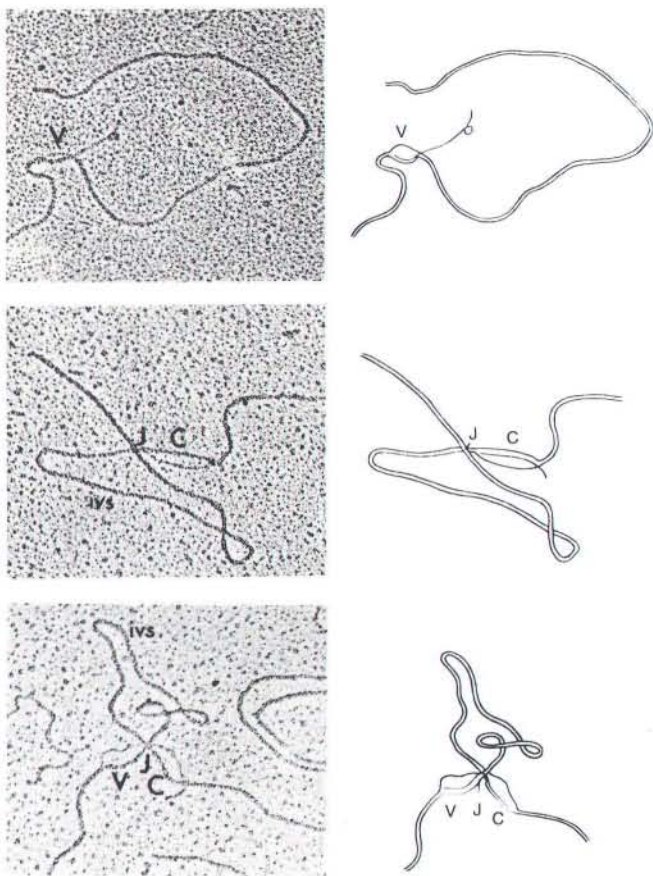
Bepaling van de basevolgorde van DNA

Het door kloneren verkregen DNA-fragment waarvan men de basevolgorde wil vaststellen wordt uit de bacterie gehaald en na restrictie van het plasmide gezuiverd. Het dubbelstrengs DNA wordt gesplitst tot enkelstrengs DNA. Op één van de strengen wordt op een van tevoren vastgestelde plaats een klein stukje complementaire streng gebracht. Nu voegt men een enzym, DNA-polymerase, en de vier basen adenine (A), guanine (G), thymine (T) en cytosine (C) toe. Eén of meerdere van deze basen zijn radioactief gelabeld. Vanaf het dubbelstrengs stukje wordt door het DNA-polymerase de complementaire streng weer opgebouwd. Behalve de vier intacte basen voegt men een kleine fractie defect adenine toe. Dit wordt wel ingebouwd maar verhindert verdere aangroei van de streng. Na verloop van tijd heeft zich een grote populatie van DNA-strengen gevormd van verschillende lengten en alle eindigend op A. Zo doet men dit ook met de andere drie basen. De vier reactiemengsels worden op een gel gebracht en de strengen naar grootte gescheiden. Na autoradiografie is de basevolgorde direct af te lezen (fig. II-3).



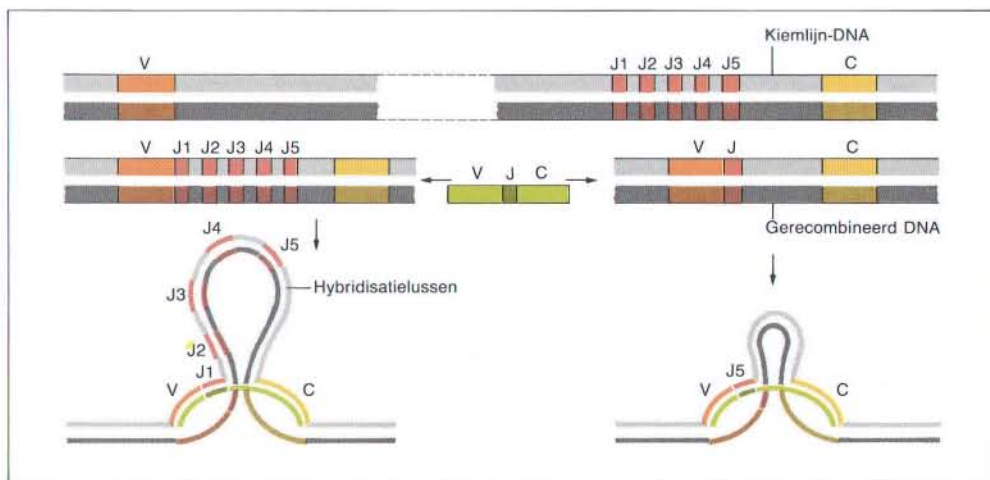
De rangschikking van de V- en C-genen op zowel de voorlopers als op het uiteindelijke immuunglobulinegen werd op een zeer elegante wijze elektronenmicroscopisch vastgesteld (zie fig. 6). Van het embryonale DNA vormt het fragment dat V bevat met het mRNA een structuur met één lus en het fragment dat C bevat een structuur met twee lussen. Het myeloma-DNA-fragment vormt een structuur met drie lussen. De lusstructuren hebben de aanwezigheid van een derde segment, het J-segment, aan het licht gebracht. Deze experimenten zijn herhaald met een aantal verschillende myeloma's, waaruit blijkt dat de middelste van de drie lussen een variabele grootte bezit. Er moeten dus meerdere J-segmenten bestaan die op het DNA dicht bij elkaar liggen (zie fig. 7).

Deze conclusies worden bevestigd door de opheldering van de basevolgorden. Het embryonale DNA geeft vijf J-segmenten te zien die onderling een sterke homologie vertonen, maar niet identiek zijn. Het J-segment codeert voor de aminozuren 96 tot 108 van de L-keten. Inmiddels was al een groot aantal aminozuurvolgorden van Bence Jones eiwitten bekend. Vergelijken we van al deze eiwitten de aminozuurvolgorden, dan blijkt dat we de volgorden 96 tot 108 in negen groepen kunnen onderbrengen (fig. 8). Deze negen mogelijke volgorden corresponderen weer met de aminozuurvolgorden die vertaald kunnen worden van vier van de vijf J-segmenten (het J3-segment blijkt inactief te zijn). Daarbij zien we extra diversiteit op plaats 96. Hier worden namelijk



Links: Fig. 6. Deze hybridisatie van het boodschapper-DNA, dat de aangesloten VJC-volgorde bevat (groen), met het DNA van embryonale cellen en myelomacellen levert karakteristieke structuren op die men met de elektronenmicroscop kan waarnemen. De tekeningen laten zien dat het DNA tussen twee gescheiden gensegmenten (donkergrijs en lichtgrijs) zichtbaar wordt als een lus. Uit het aantal en de grootte van de lussen kan men de rangschikking van de gensegmenten op het DNA afleiden.

Onder: Fig. 7. Van de structuren met drie lussen blijkt de buitenste lussen (V en C) steeds een constante grootte te bezitten. De middelste lus kan verschillende grootten aannemen. Zoals de tekening laat zien, kan men uit de grootte van deze lus het aantal en de onderlinge afstand van de J-segmenten bepalen.



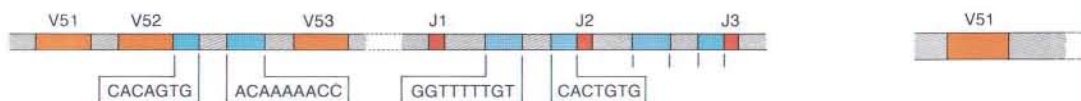
	basevolgorde J segmenten													108
J1	TGG	ACG	TTC	GGT	GGA	GGC	ACC	AAG	CTG	GAA	ATC	AAA	CGT	
J2	TAC	ACG	TTC	GGA	GGG	GGG	ACC	AAG	CTG	GAA	ATA	AAA	CGT	
J3	ATC	ACA	TTC	AGT	GAT	GGG	ACC	AGA	CTG	GAA	ATA	AAA	CCT	
J4	TTC	ACG	TTC	GGC	TCG	GGG	ACA	AAG	TTG	GAA	ATA	AAA	CGT	
J5	CTC	ACG	TTC	GGT	GCT	GGG	ACC	AAG	CTG	GAG	CTG	AAA	CGT	

aminozuurvertaling van de J segmenten

J1	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
J2	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
J3	Ile	Thr	Phe	Ser	Asp	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Ile	Lys	Pro
J4	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
J5	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg

experimenteel gevonden aminozuurvolgordes in Bence Jones eiwitten

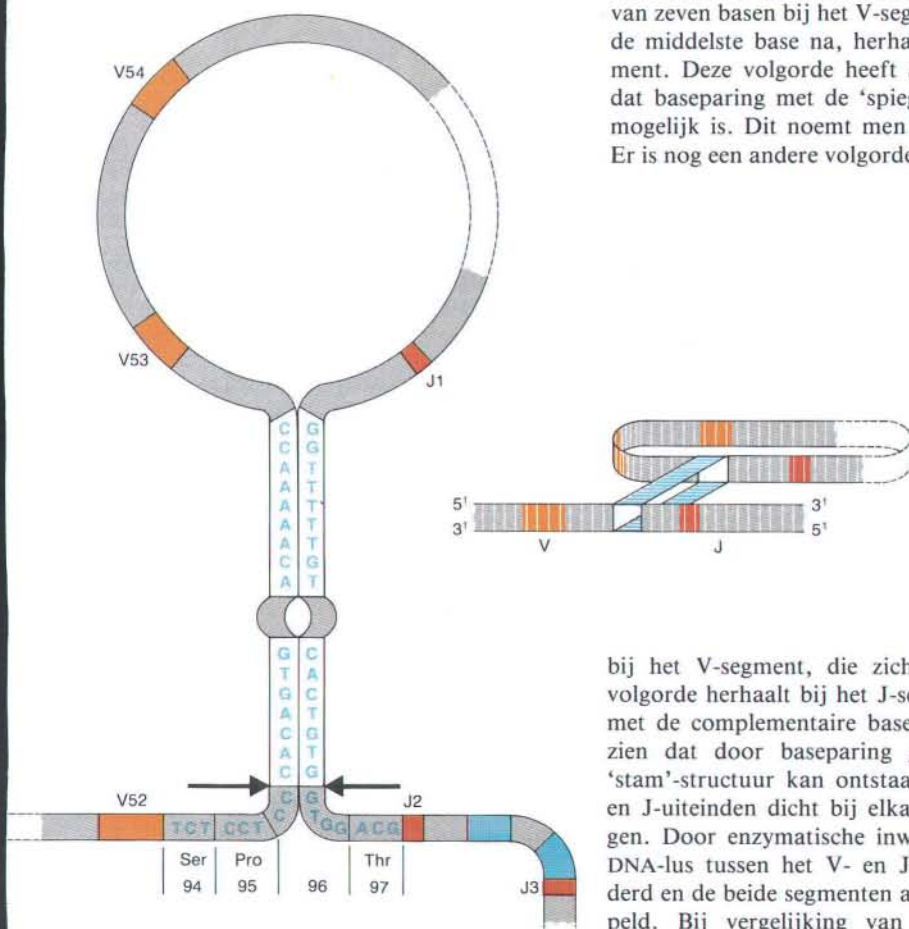
1	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	= J1
2	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	
3	Pro	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	
4	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	= J2
5	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	= J4
6	Trp	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	
7	Leu	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	
8	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	= J5
9	Ile	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	



Geheel boven: Fig. 8. Deze figuur toont gen- en eiwitstructuur van de J-segmenten van de lichte keten. De basevolgorden van de vijf J-segmenten zijn sterk homogeen (aangegeven met geel). De basetripletten coderen voor de aminozuren zoals aangegeven in het midden van de tekening. De homologie is ook hier aangegeven in geel. De aminozuren die afwijken van de aminozuren van J1 zijn met andere tinten aangegeven. Aminozuur 96 vertoont geen homologie. Deze is voor alle vijf J-segmenten verschillend. Van alle onderzochte Bence Jones-eiwitten

blijken de aminozuren 96 tot en met 108 één van negen volgorden te bezitten zoals aangegeven in het onderste deel van de figuur. Vier van deze volgorden zijn geheel identiek aan de voorspelde volgorden van J1, J2, J4 en J5. De ander vijf volgorden verschillen hiervan slechts op plaats 96. Deze extra variatie van aminozuur 96, waarvoor niet gecodeerd wordt op het kiemlijn-DNA, ontstaat tijdens de recombinatie van het V- en J-DNA-segment. Als voorbeeld wordt de recombinatie van V en J1 uitgewerkt in figuren 9 en 10.

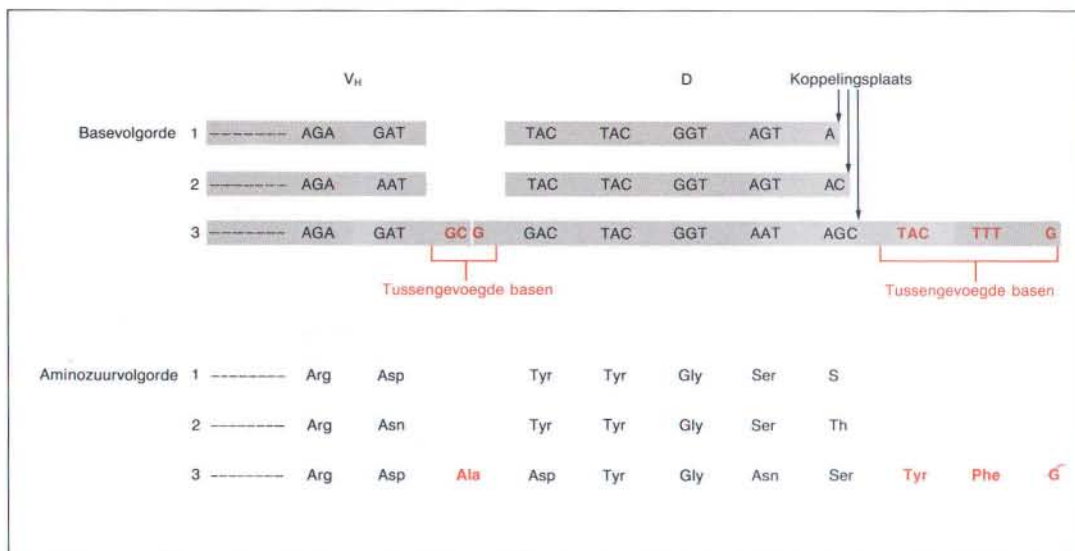
Onder: Fig. 9. 'Stam'-structuur van het DNA, dat codeert voor de lichte keten. Door de bijzondere structuur van de signaalvolgorden (in blauw aangegeven) wordt een V- en een J-segment dicht bij elkaar gebracht. Dit gebeurt doordat plaatselijk de baseparing met de complementaire DNA-streng verbroken wordt, zodat baseparing tussen signaalvolgorden van dezelfde streng mogelijk wordt. In het rechter deel van de figuur is de baseparing met de complementaire streng lichtgrijs en de baseparing tussen delen van dezelfde streng met blauw aangegeven. Het codon voor aminozuur 96 (linker deel van de figuur) ontstaat doordat de DNA-streng op twee plaatsen onder de stamstructuur door enzymatische inwerking wordt opengebroken (pijlen), de lus en de stamstructuur verdwijnen en de losse DNA-uiteinden door een ander enzym weer aan elkaar gekoppeld worden. De exacte plaatsen van openbreken en koppelen worden in figuur 10 getoond.



meer aminozuren aangetroffen dan men op grond van de basevolgorde zou verwachten. Dit is temeer interessant, daar aminozuur 96 precies in CDR3 ligt, waar men juist diversiteit verwacht. Deze extra diversiteit wordt gegeneerd tijdens het DNA-recombinatieproces, waarbij het V- en het J-segment aan elkaar gekoppeld worden.

Hoe gaat dat in zijn werk? Aangrenzend aan de V- en J-segmenten bevinden zich op het embryonaal DNA zogenaamde signaalvolgorden die in de somatische cel deze segmenten dicht bij elkaar brengen (fig. 9). Er is een volgorde van zeven basen bij het V-segment die zich, op de middelste base na, herhaalt bij het J-segment. Deze volgorde heeft als bijzonderheid dat baseparing met de 'spiegelbeeldvolgorde' mogelijk is. Dit noemt men een *palindroom*. Er is nog een andere volgorde van negen basen

bij het V-segment, die zich in omgekeerde volgorde herhaalt bij het J-segment, maar nu met de complementaire basen. Figuur 9 laat zien dat door baseparing gemakkelijk een 'stam'-structuur kan ontstaan waarbij de V- en J-uiteinden dicht bij elkaar komen te liggen. Door enzymatische inwerking wordt de DNA-lus tussen het V- en J-segment verwijderd en de beide segmenten aan elkaar gekoppeld. Bij vergelijking van embryonaal en myeloma-DNA deed men de grote ontdekking dat de exacte koppelingsplaats niet constant is. Bij de ene myeloma ligt deze een paar basen meer naar links, bij de andere meer naar rechts. Aangezien drie basen coderen voor één aminozuur, ontstaat zo op plaats 96 steeds een codon voor een ander aminozuur, afhankelijk



van de koppelingsplaats (zie fig. 10). Op deze manier kunnen alle waargenomen aminozuurvariëaties op plaats 96 verklaard worden. Dit is wel de meest verrassende ontdekking van de eind jaren zeventig. Zelfs de meest stoutmoedigen onder de immunologen hadden niet een dergelijk mechanisme durven voorspellen.

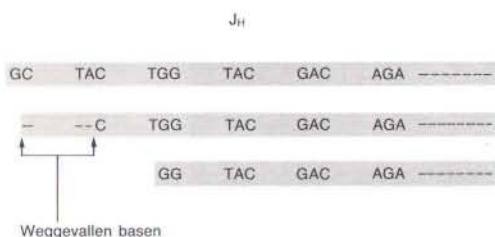
Onder: Fig. 10. Drie mogelijke koppelingsplaatsen van V- en J-DNA-segmenten. De signaalvolgorden (in rood aangegeven) zorgen voor het bij elkaar brengen van de zwart aangegeven basen (vergelijk met figuur 9). De nieuw te vormen verbinding tussen V en J kan plaats hebben langs de groene lijn 1, 2 of 3. Op deze manier kunnen drie codons ontstaan, namelijk voor de aminozuren Trp, Arg en Pro. Dit verklaart het voorkomen van Trp, Arg en Pro op plaats 96 in figuur 8 (groepen 1, 2 en 3 van de Bence-Jones-eiwitten).

Kiemlijn V		TCT	CCT	CCC	ACA	GTG
Koppelingsplaatsen				123		
Kiemlijn J1		CA	CTG	TGG	TGG	ACG
Gerecombineerd VJ	1	TCT	CCT	TGG	ACG	
	2	TCT	CCT	CGG	ACG	
	3	TCT	CCT	CCG	ACG	
Aminozuurvolgorde	1	Ser	Pro	Trp	Thr	
	2	Ser	Pro	Arg	Thr	
	3	Ser	Pro	Pro	Thr	

Meer diversiteitsgenerators dienen zich aan

Aangemoedigd door deze resultaten stortten de onderzoekers zich begin jaren tachtig op de genstructuur voor de H-keten en opnieuw kwam men voor verrassingen te staan. Bij het H-keten-gen worden V en C niet alleen door een J, maar ook door een D-segment verbonden. Het D-segment ontleent zijn naam aan *Diversity* en codeert voor ongeveer alle aminozuren van CDR3. De muis bezit twaalf D-segmenten, dicht bij elkaar op het DNA. De plaats van zowel de V-D als de D-J koppeling is flexibel, een situatie vergelijkbaar met die van de L-keten. Bovendien bestaat bij de H-keten nog een extra variatie. Tijdens V-D en D-J koppeling kunnen een willekeurig aantal basen wegvallen of tussengevoegd worden (zie fig. 11). Hoe dit precies gebeurt is nog een raadsel.

Recent zijn nog enkele diversiteitsgenererende mechanismen aangetoond. Erfelijkheids-onderzoekers hebben aangetoond dat DNA aan een serie dynamische processen onderhevig is. Zo vertoont het DNA een zekere *instabiliteit*, waardoor kleine stukjes DNA regelmatig overgeplaatst worden naar een ander deel van het chromosoom. Dit gebeurt ook bij immuoglobulinegenen. Eerder in dit artikel is al aangegeven dat de embryonale cel beschikt over een groot aantal (men schat een paar hon-



er	Tyr	Trp	Tyr	Asp	Arg	-----
-	--r	Trp	Tyr	Asp	Arg	-----
		ly	Tyr	Asp	Arg	-----

derd) V-segmenten die een zekere mate van homologie vertonen. Het is aangetoond dat V-segmenten onderling kunnen hybridiseren en stukjes DNA uitwisselen (fig. 12). Hierdoor wordt de diversiteit extra verhoogd.

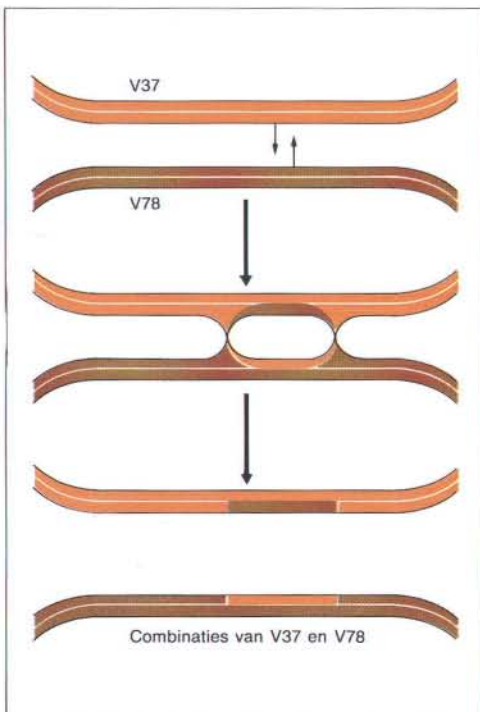
Lang heeft men gespeculeerd of H- en L-ketens in verschillende combinaties kunnen voorkomen. Stel dat we duizend verschillende H- en duizend verschillende L-ketens hebben, dan zijn in principe een miljoen verschillende combinaties, dus antilichamen mogelijk. Dat dit een algemeen principe is, is nog allerminst aangetoond, maar recente vondsten wijzen erop dat dit principe minstens in bepaalde gevallen een rol heeft gespeeld.

Door al deze revolutionaire ontwikkelingen was de mogelijkheid van DNA-mutaties als generator van diversiteit enigszins uit het oog verloren. Zeer recent is dit mechanisme evenwel herontdekt. Mutaties komt men op het spoor door complete immuunglobulinegenen te vergelijken met hun kiemlijnvoorlopers. Het komt regelmatig voor dat verschillen in één of enkele basen aangetroffen worden, die niet door één van de hierboven genoemde mechanismen verklaard kunnen worden. Ze moeten dus het gevolg zijn van *somatische mutaties*. De laatste jaren is het aantal opgehelderde genstructuren enorm toegenomen. Het verrassende is, dat de waargenomen somatische mutaties vooral in de CDR's en in mindere mate

in de FR's blijken voor te komen. Een ander opvallend verschijnsel is dat de mutaties vooral op de genen voor IgG voorkomen, maar niet of nauwelijks op die voor IgM. IgM-antilichamen worden bij de primaire en IgG bij de secundaire respons gemaakt. Het is een alge-

Links: Fig. 11. V-D-J koppeling bij het DNA dat codeert voor de zware keten. De koppeling vindt op dezelfde manier plaats als bij de lichte keten. De waargenomen variaties van de plaats van koppeling van D- en J-segmenten zijn in de figuur aangegeven. Na het breken van de DNA-streng kan aan de losse uiteinden door inwerking van bepaalde enzymen een willekeurig aantal basen aangezet of afgesplitst worden, alvorens de losse uiteinden weer aan elkaar verbonden worden. Dit wordt in het bovenste deel van de figuur getoond. In het onderste deel van de figuur is te zien hoe deze processen de aminozuurvolg-orde beïnvloeden.

Onder: Fig. 12. In dit voorbeeld wisselen V37 en V78, dank zij hun homologie, stukjes DNA uit door plaatselijke verbreking van de dubbele DNA-streng en hybridisatie van de enkele streng met het andere V-segment. Enzymen knippen de gekruiste DNA-strengen los en hechten de lichte en donkere uiteinden aan elkaar.



meen ervaringsfeit dat IgG sterker aan het antigeen bindt dan IgM. Kennelijk vindt bij de secundaire respons niet alleen een klasse-overgang plaats, maar wordt tevens de mutatiefrequentie op het DNA in de CDR's aanmerkelijk verhoogd. Hierdoor vindt een soort *fijnafregeling* plaats, die daarin resulteert dat het antilichaam, dat het antigeen aanvankelijk zwak herkende, nu beter op het antigeen past en er sterker aan bindt.

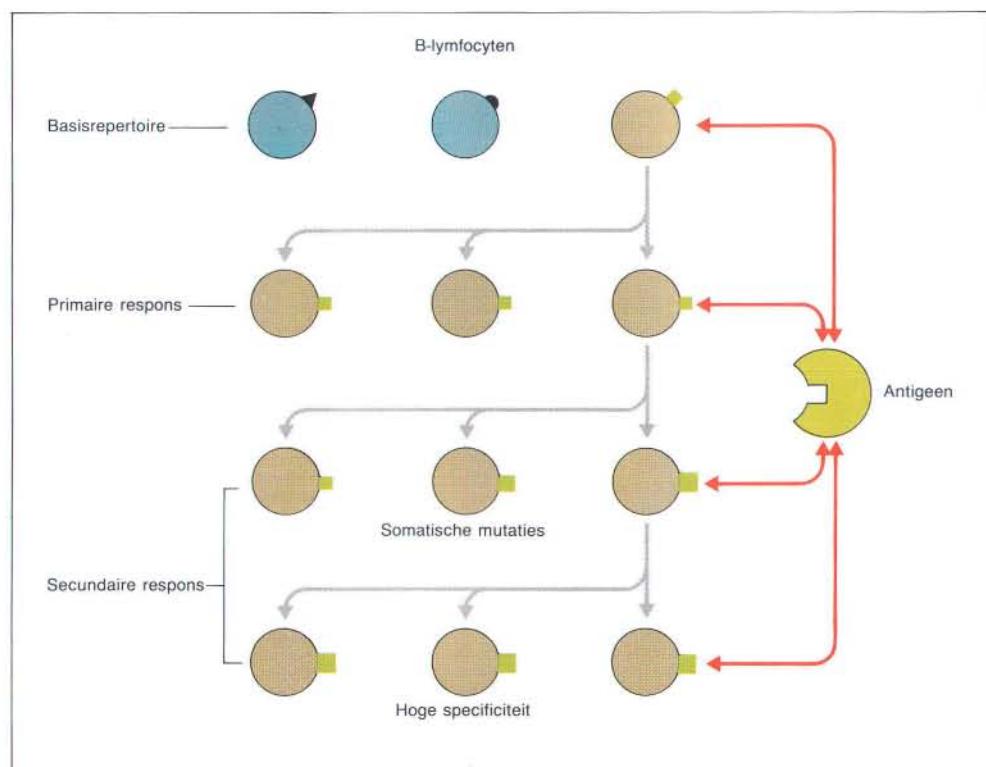
De paradox van antilichaamdiversiteit behoort tot het verleden

In het voorafgaande hebben we gezien dat een gedeelte van de diversiteit genetisch is vastgelegd, in overeenstemming met de kiemlijntheorie. Er bestaan enkele honderden V-segmenten zowel voor de H- als voor de L-keten.

Het exacte aantal is echter nog niet bekend. Bovendien zijn er meerdere J- en D-segmenten aanwezig. In de gedifferentieerde cel kunnen al deze segmenten in verschillende combinaties voorkomen, waardoor extra diversiteit wordt gecreëerd. Die combinaties komen tot stand tijdens celdifferentiatie en zijn dus in overeenstemming met de somatische theorie. Door het koppelingsmechanisme van deze gen-segmenten wordt de diversiteit in CDR3 nog eens extra verhoogd. Dit komt voor een deel door kleine variaties in de plaats van de V-J koppeling in het L-keten-gen enerzijds en de V-D en D-J koppelingen in het H-keten-gen anderzijds. Voor een ander deel wordt dit veroorzaakt door verwijdering of toevoeging van basen tijdens de koppelingen van het H-keten-gen. De diversiteit wordt nogmaals verhoogd door onderlinge uitwisseling van stukjes DNA

Fig. 13. De β -lymfocyten van het basisrepertoire hebben een lage specificiteit, d.w.z. dat de antilichamen meer dan één antigeen herkennen en zich er betrekkelijk zwak aan binden. Enkele van deze cellen worden door het anti-

geen gestimuleerd tot deling en tot somatische mutaties, waardoor onderling verschillende cellen ontstaan. Hiervan hebben enkele een hoge specificiteit. Deze cellen worden door het antigeen verder tot deling aangezet.



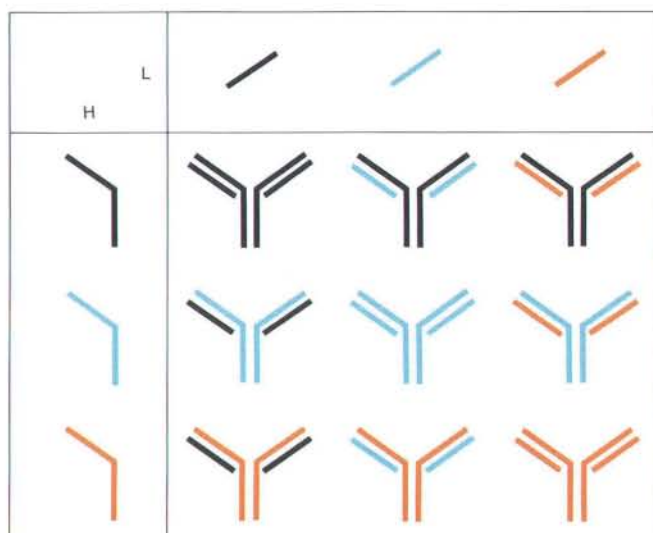


Fig. 14. Zoals deze figuur laat zien, kunnen drie verschillende L-ketens en drie verschillende H-ketens negen verschillende antilichamen vormen. Elke β -lymfocyt is in staat slechts één type L-keten en één type H-keten te produceren.

van V-segmenten en door verschillende combinaties van L- en H-ketens. Naar de huidige opvattingen vinden al deze mechanismen willekeurig tijdens de celdifferentiatie plaats. Dit resulteert uiteindelijk in een grote populatie onderling verschillende B-lymfocyten.

De vraag is: zijn we er nu? De immunoloog Niels Kaj Jerne heeft het totale antilichaamrepertoire geschat op 10^6 tot 10^8 . Als we voor de lichte keten 250 V- en 4 J-segmenten aannemen, en voor de zware keten 200 V-, 12 D- en 4 J-segmenten, verkrijgen we, eenvoudig door vermenigvuldiging, voor de L-keten 10^3 en voor de H-keten 10^4 verschillende combinaties. Door het koppelingsmechanisme wordt de diversiteit van de lichte keten ongeveer met een factor tien en die van de zware keten met een factor honderd verhoogd. Alleen al op grond van deze gegevens komen we op een ruwe schatting van 10^4 L- en 10^6 H-ketens, die uiteindelijk theoretisch 10^{10} verschillende antilichamen kunnen vormen. We zien dus dat een klein deel van alle mogelijkheden gebruikt hoeft te worden om het antilichaamrepertoire te creëren.

Het aantal antigenen is daarentegen veel groter. Dit probleem wordt op een elegante wijze opgelost door de somatische mutaties tijdens de secundaire respons. De antilichamen van het basisrepertoire zijn weinig specifiek. Elk antilichaam herkent veel antigenen, zodat een willekeurig antigeen in de regel wel herkend wordt door één van de al aanwezige B-lymfocyten. Bij de secundaire respons wordt de frequentie van willekeurige mutaties van het DNA in deze geactiveerde B-lymfocyt verhoogd. Hierdoor differentieert deze cel, die aanvankelijk een lage specificiteit had voor het antigeen, zich tot een grote populatie cellen, waarvan de specificiteit voor het betreffende antigeen varieert van zeer laag tot zeer hoog. Uit deze populatie zal het antigeen bij voorkeur de cellen met hoge specificiteit tot extra deling aanzetten, waardoor met name de hoog specifieke antilichamen aangemaakt worden. Met deze verklaring behoort de paradox van de antilichaamdiversiteit tot het verleden en zullen de begin jaren tachtig als een belangrijke mijlpaal de geschiedenis van de immunologie ingaan.

Literatuur

Bruning, J.W., (1981). *Humorale immuniteit – Opsporen en aanhouden van indringers*. Natuur en Techniek 49, 10, pag. 758-777.

Bronvermelding illustraties

Steve Noorthuys, Black Star/Transworld Features Holland BV, Haarlem: pag. 907.

Philip Leder, Harvard Medical School: pag. 910-911. De overige illustraties zijn afkomstig van de auteur.

ACTUEEL

Nieuws uit wetenschap, technologie en samenleving
natuur en techniek

Chemie Nobelprijs '84 voor Bruce Merrifield

Een naam als een klok in de oren van organische en biochemici, die Merrifield: onafscheidelijk gekoppeld aan moderne synthese van peptiden. Een 'klassieker' als het ware in chemiecurssussen.

Peptiden zijn kleine eiwitten, aaneenschakelingen van een klein of groot aantal bouwstenen, namelijk aminozuren. Elk aminozuur ($H_2N-R-COOH$) bevat een basische en een zure functie, zodat, bij samenbrengen van twee verschillende aminozuren, dipeptiden kunnen ontstaan (NH_2 -functie van het ene aminozuur reageert met de $COOH$ -functie van het andere aminozuur en vice versa).

Zulks brengt mee dat telkens een aminofunctie en een zuurfunctie van een reagerend koppel afgeschermd of geblokkeerd moet worden, wil men de gewenste verknoping krijgen. Bovendien moeten de vrije amino- en zuurfuncties liefst nog geactiveerd worden teneinde een vlotte reactie mogelijk te maken. Is het dipeptide tot stand gekomen, dan moeten de blokkerende groepen weer verwijderd worden, waarna het gehele proces herbegint voor de synthese van een tripeptide. Het is zondermeer duidelijk dat deze werkwijze een hoop werk en lage efficiënties met zich meebrengt als een aantal, zeg 20, aminozuren gekoppeld moeten worden.

Bruce Merrifield bedacht de *geplande peptidesynthese*, waar het groeiend peptide op een vast dragermateriaal gebonden wordt. Alle stappen verlopen nu één

voor één in een kolom, die de vaste fase bevat, eenvoudig door er het geschikt reagens door te sturen. Op deze wijze hoeven de intermediaire verbindingen niet geïsoleerd, noch gezuiverd te worden. De bijproducten worden gewoon weggefilterd. Als de synthese voltooid is, kan het peptide vlot van de vaste drager verwijderd worden. Het gehele procédé kan zelfs geheel automatisch verlopen. Zo worden thans peptiden op rendabele, snelle en eenvoudige manier aangemaakt met hoge opbrengsten. Een doorbraak in de eiwitchemie.

Robert Bruce Merrifield is een Texaan (Fort Worth, 15 juli 1921), studeerde af aan de Universiteit van Californië te Los Angeles en trad in 1949 in dienst van de Rockefeller Universiteit te New York, waar hij professor werd in 1966.

De 'solid phase peptide synthesis', waarvoor Merrifield nu met de Nobelprijs gehonoreerd wordt, werd eerst gerapporteerd in april 1962 op een bijeenkomst van de Federatie van de Amerikaanse Verenigingen voor Experimentele Biologie.

Sindsdien werden via het Merrifield-procédé ook tal van efficiënte organische transformaties buiten gerealiseerd met andere verbindingen.

Dr. D. De Keukeleire
Rijksuniversiteit Gent

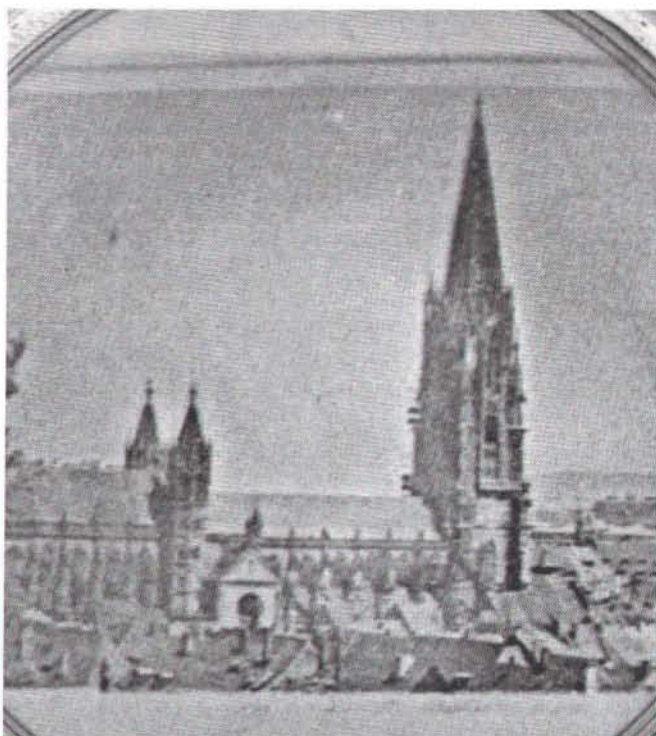
Levende foto's

Vele micro-organismen bewegen zich actief en zoeken de ecologische niche op in hun omgeving die hun schikt. Daarbij oriënteren ze zich op chemische, thermische, mechanische en lichtprikkels. Vooral het licht speelt een belangrijke rol bij het sturen van de bewegingen. Dat is niet alleen zo bij fotosynthetiserende organismen die afhankelijk zijn van lichtenergie, maar ook bij niet-fotosynthetiserende organismen. Het bewegingsmechanisme van de draadvormige blauwwier *Phormidium uncinatum* is tot nu toe niet ontdekt. De algendraden (trichomen) kunnen niet zwemmen maar bewegen zich glijdend voort als ze in contact staan met een substraat. Ze draaien zich daarbij om hun lengteas en scheiden daarbij een slijmschede af, die aan het substraat hecht en achterblijft, terwijl het voorste deel van de algendraad doorgaat met naar voren kruipen. Je zou hieruit kunnen concluderen dat dat de voortstuwende kracht tussen de celwand en de slijmschede wordt ontwikkeld, maar tot nog toe zijn geen zichtbare aanwijzingen daarvoor waargenomen, zoals contractiegolven of peristaltische bewegingen.

Phormidium uncinatum vertoont fotofobische reacties. Als de lichtintensiteit plotseling afneemt, stopt een algendraad een aantal seconden en kruipt dan langs zijn oorspronkelijke baan terug. Een ommekeer van de beweging vindt dus plaats. Deze reactie kun je door een eenvoudig

schoolproefje aantonen. Wanneer men lichtvelden in een populatie van *Phormidium* projecteert vindt men na een paar uur een opeenhoping van deze organismen in de lichtvelden. De verklaring is dat de cyanobacteriën bij hun ongerichte bewegingen toevallig over de grens van het donkere veld in het lichte veld komen. De verhoogde lichtintensiteit in het lichte veld veroorzaakt geen fotofobische reacties. Pas bij het verlaten van het lichte veld is dit het geval, omdat er dan sprake is van een lichtintensiteitsafname en vindt een ommekeer van de beweging plaats. Doordat dit proces zich voortdurend herhaalt en steeds nieuwe algen het lichte veld inkruipen is er sprake van een opeenhoping van deze organismen in het lichtveld. We zouden dit een lichtval kunnen noemen.

Met behulp van deze lichtvallen kun je allerlei vragen beantwoorden over *Phormidium uncinatum*. Zo kun je bijvoorbeeld uitzoeken wat de drempelwaarde is van de fotofobische reactie door de lichtintensiteit te verlagen. De meest gevoelige organismen bleken nog te reageren op een lichtintensiteit van 0,03 lux, wat aanzienlijk minder is als de sterkte van het maanlicht. Je kunt met de lichtvalmethode ook onderzoeken wat de relatieve drempel is. Daartoe projecteert men de lichtvelden niet in een overigens helemaal donker veld maar in een zwak belicht veld. Onder gunstige omstandigheden bleken blauwwieren nog te reageren op lichtintensiteitsverschillen van 4 procent tussen het lichte veld en het omliggende veld. Deze opmerkelijke gevoeligheid van cyanobacteriën kun je heel aanschouwelijk demonstreren met een simpel proefje. Wanneer men een fotonegatief projecteert in een homogene suspensie van blauwwieren in agar, verzamelen de organismen zich in de lichte delen en mij-



den de donkere. Laat men de agar, terwijl die belicht wordt, langzaam uitdrogen dan worden de algen op hun plaats gefixeerd en heeft men uiteindelijk een fotografische positieve afdruk.

(Biologie in unserer Zeit)

De Münster van Freiburg in een petri-schaal. Dit positief ontstaat wanneer een fotonegatief in een oplossing cyanobacteriën gelegd wordt. De bacteriën verzamelen zich op de heldere gedeelten die zo als 'lichtval' werken en donker worden.

Elementscheiding in zonnevlam

Reeds geruime tijd hebben sterrekundigen opgemerkt dat het heelal niet overal even sterk 'dooreen geroerd' is en dat er scheiding van scheikundige elementen op kan treden. Zo zijn er duidelijke aanwijzingen dat de zgn. witte dwergen, zeer compacte sterren, een buitenmantel hebben die uit vrijwel zuiver waterstof bestaat, het

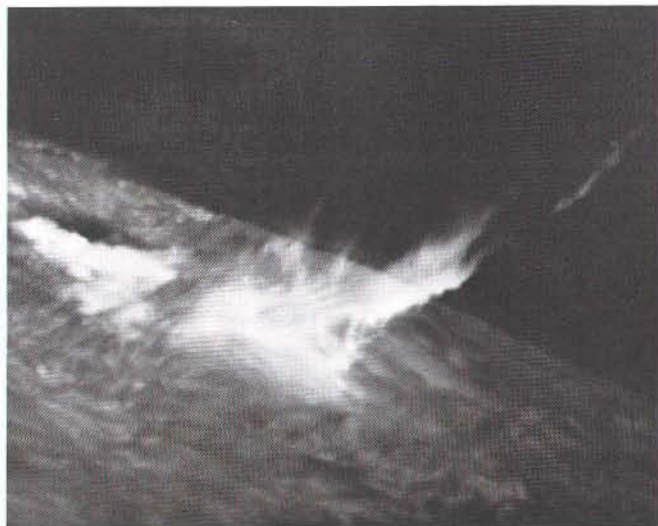
lichtste scheikundige element. Dit waterstof 'drijft' op een ondergrond van zwaardere gassen, zoals helium, silicium, ijzer. In de binnendelen van witte dwergen komt waterstof zelfs in het geheel niet voor. Er zijn meer dergelijke voorbeelden. Ze hebben alle betrekking op sterren die al lang bestaan en die nu een buitenman-

tel hebben waarin geen opstijgende en dalende bewegingen meer voorkomen, zodat de scheiding van de lichte en de zwaardere stoffen zich in alle rust en in voldoende tijd kan voltrekken.

Juist daarom is een recente ontdekking van elementenscheiding in *zonnevlammen* opzienbarend. Zonnevlammen zijn kortdurende explosieve verschijnselen boven het oppervlak van de Zon. Waarnemingen van zonnenvlammen, verkregen in 1980 met de NASA satelliet Solar Maximum Mission, zijn thans onderzocht door medewerkers van de Laboratoria voor Ruimte-onderzoek te Utrecht, Wrocław (Polen) en Holmbury St. Mary (Engeland). Deze onderzoekers vonden in een dertiental zonnenvlammen sterke aanwijzingen dat in de eindfasen van deze vlammen, wanneer het sterk verhitte gas alweer afkoelt, elementenscheiding op kan treden. Voor het element calcium waren goede metingen voorhanden. Het bleek dat, ten opzichte van het element waterstof, de relatieve

hoeveelheid calcium kan variëren; in sommige vlammen kan het tot 25 maal meer voorkomen dan in andere. Opmerkelijk is dat reeds in 1967 door de Fransman Delache en de Japanner Nakada voorspeld was dat elementenscheiding in de buiten-atmosfeer van de Zon kunnen voorkomen, maar het leek toch wel uiterst onwaarschijnlijk dat dit verschijnsel ooit zou kunnen optreden in de kortdurende en zeer turbulente zonnenvlammen, waar alles eerder op heftige menging duidt dan op rustige elementenscheiding. De onderzoekers vragen zich af of de elementenscheiding samen kan hangen met de grote temperatuursverschillen in de vlammen, waardoor zwaardere elementen zoals calcium en ijzer zich naar de hete delen van het vlamgebied bewegen, maar een definitieve verklaring van dit verschijnsel, dat met goede zekerheid vastgesteld lijkt, zal niet eenvoudig zijn.

(Persbericht Nationaal Instituut voor Ruimteonderzoek)



De verschijning van een zonnenvlam aan het oppervlak van de zon. (Foto: Sacramento Peak Observatory, USA).

Dechlorering loopt gladdes

Onderzoekers van de Rijksuniversiteit Leiden hebben onlangs vastgesteld dat gechloreerde koolwaterstoffen in de gasfase met behulp van waterstof kunnen worden omgezet in zoutzuurgas en een chloorarm of zelfs chloorvrij produktmengsel. Daarmee lijkt de weg geopend naar een nieuwe, veilige en milieuvriendelijke manier van verwerken van allerlei soorten gechloreerde organische afvalprodukten. Vooral ook die met een hoog chloorgehalte.

De groep onderzoekers stelde vast dat gechloreerde benzenen bij 875 à 900°C in tien seconden benzeen opleveren. Daarnaast ontstonden ca. 1 procent bifenylen en wat methaan. PCB's (polychloorbifenylen) worden onder dergelijke omstandigheden voor meer dan 99 procent gedechloréerd én gesplitst, voornamelijk weer tot benzeen.

De kans op vorming van extreem toxische verbindingen zoals dioxine, zoals nog regelmatig voorkomt, is onder dergelijke omstandigheden praktisch nul. Voorts zal chemisch afval dat dergelijke stoffen bevat, door de relatief gemakkelijke de-chlorering en de-oxygenering zijn toxische eigenschappen verliezen.

Het onderzoek wordt gesubsidieerd door het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieuhygiëne. Het zal zich gaan toespitsen op fundamentele achtergrondkennis (reactiemechanismen, kinetiek), het gedrag van andere modelafvalstoffen en praktijkmonsters en, in samenwerking met de TH Eindhoven, mogelijke procesmatige toepassingen.

Prof. R. Louw
Rijksuniversiteit Leiden



Het raadsel van het licht

Een populaire verklaring van de theorie der quanta
door Prof. Dr. E. SCHRÖDINGER

Ook u straalt licht uit!

Allereerst een paradox: *Alle* voorwerpen stralen *altijd* licht uit! Zij weerkaatsen niet alleen licht van andere lichtbronnen, bijv. van de zon, neen: zij zijn ook zelf lichtbronnen. Bij de meeste voorwerpen om ons heen blijft deze straling weliswaar beperkt tot de zg. donkere warmtestralen, die een golflengte hebben van méér dan $800\ \mu\mu$ en dus weer – maar aan den anderen kant dan de Röntgenstralen – voor ons oog onwaarneembaar zijn. Wij hebben echter een ander orgaan, dat voor deze lange golflengte gevoelig is, en wel de huid. Uw donzen wangen, mevrouw, ontvangen op dit oogenblik stralen van om en bij $10000\ \mu\mu$ golflengte van het nummer van „Natuur en Techniek”, waarin u zit te lezen. Dit is u natuurlijk tot dusver niet opgevallen, maar dat komt, omdat u er aan gewend is dat alle lichamen in uw omgeving in dezen vorm ten minste een deel teruggeven van de warmte, die u zelf naar alle kanten uitstraalt – ik bedoel niet als gevolg van uw beminnelijk temperament, maar als gevolg van uw lichaamstemperatuur van 37° Celsius. Dát de warmtestraling van „Natuur en Techniek” er inderdaad is, zult u onmiddellijk bespeuren wanneer u dit nummer vervangt door een blok ijs, dat iets minder sterk uitstraalt. U zou waarschijnlijk geneigd zijn te zeggen, dat het koude uitstraalde, maar dat zou een dichterlijke vrijheid zijn, die een natuurkundige zich niet mag veroorloven. Wat u als „koude” voelt is niets anders dan een zeker gemis aan warmtestralen, waaraan u gewend bent. Ook het ijsblok straalt warmte uit – maar alleen maar minder dan u aangaan is.

U hebt nu meteen iets zeer belangrijks geleerd: de algemeene warmte- en lichtstraling wordt sterker als de temperatuur stijgt. Dit is een algemeene regel; de toename verloopt volgens vaste wetten en is zeer aanzienlijk.

Tevens komen – eveneens volgens vaste wetten – bij stijging der temperatuur de stralen in het gebied van steeds kortere golflengten. Bij iets meer dan 500° Celsius wordt het „roode einde” van de zichtbare golflengtengroep (dus ongeveer $800\ \mu\mu$) bereikt.

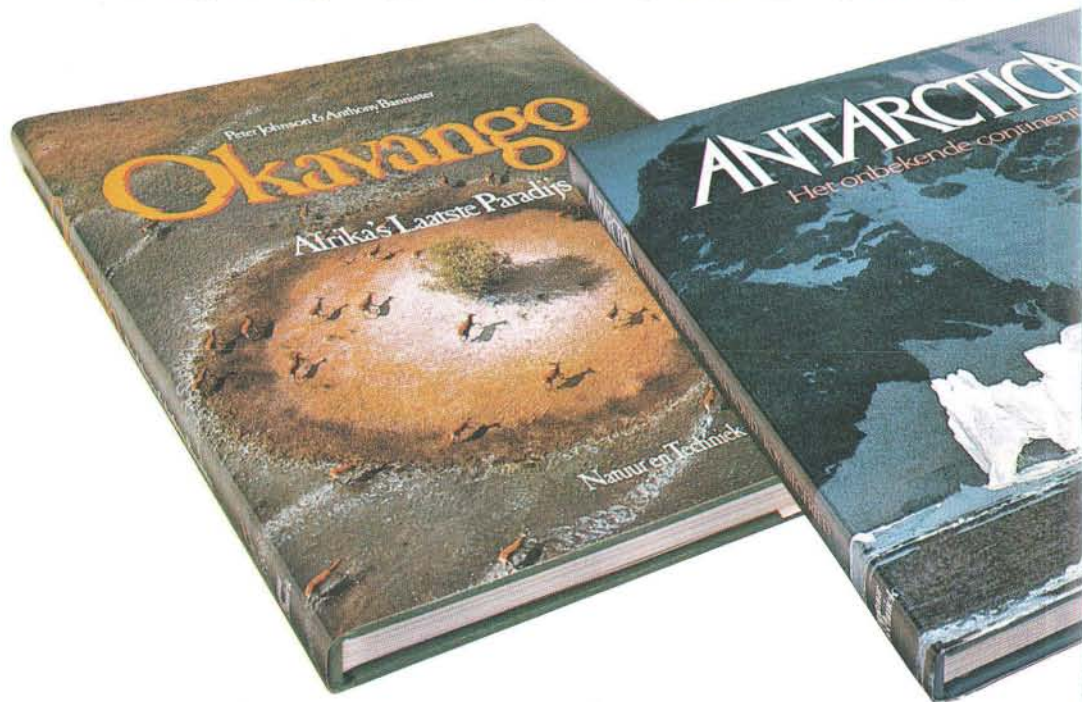
Een lichaam, dat tot die temperatuur wordt verwarmd, begint donkerrood te gloeien. Bij verdere verwarming wordt de kleur achtereenvolgens oranje en geel, naar mate er meer stralen van kortere golflengten worden uitgezonden. Eerst bij 5700° (dit is de temperatuur der zon) ligt het maximum der straling midden in het gebied der zichtbare golflengten, en wel juist in het gebied van die kleur, die voor ons oog het helderst is: het geel.

In het inwendige van zon en sterren komen nog veel hogere temperaturen voor, ongetwijfeld van meerdere miljoenen graden Celsius. Daar zenden alle lichamen „vanzelf” Röntgenstralen van buitengewone sterkte uit, zonder dat men ze daartoe eerst door bijzondere kunstmiddelen behoeft „aan te zetten”, zooals dit in de Röntgenbuis gebeurt door hooge electrische spanningen.

Uit de wetten der warmtestraling, die in hoofdzaak inhouden wat wij hierboven zeer vluchtig hebben geschetst, heeft Max Planck conclusies afgeleid van buitengewoon verstrekkende betekenis (de zg. quanta-theorie), waarover wij het straks nog zullen hebben.



Deze 3 fotoboeken



Okavango **Afrika's Laatste Paradijs**

Auteur: Creina Bond
Foto's: Peter Johnson en Anthony Bannister

De Okavango is een rivier die de verkeerde kant opstroomt. Ontstaan uit ontelbare stroompjes in de bergen van Angola, op slechts 300 kilometer vanaf de Atlantische Oceaan, slingert de rivier zich aarzelend door het Afrikaanse landschap, richting Indische Oceaan, om leeg te bloeden midden in de Kalahari-woestijn.

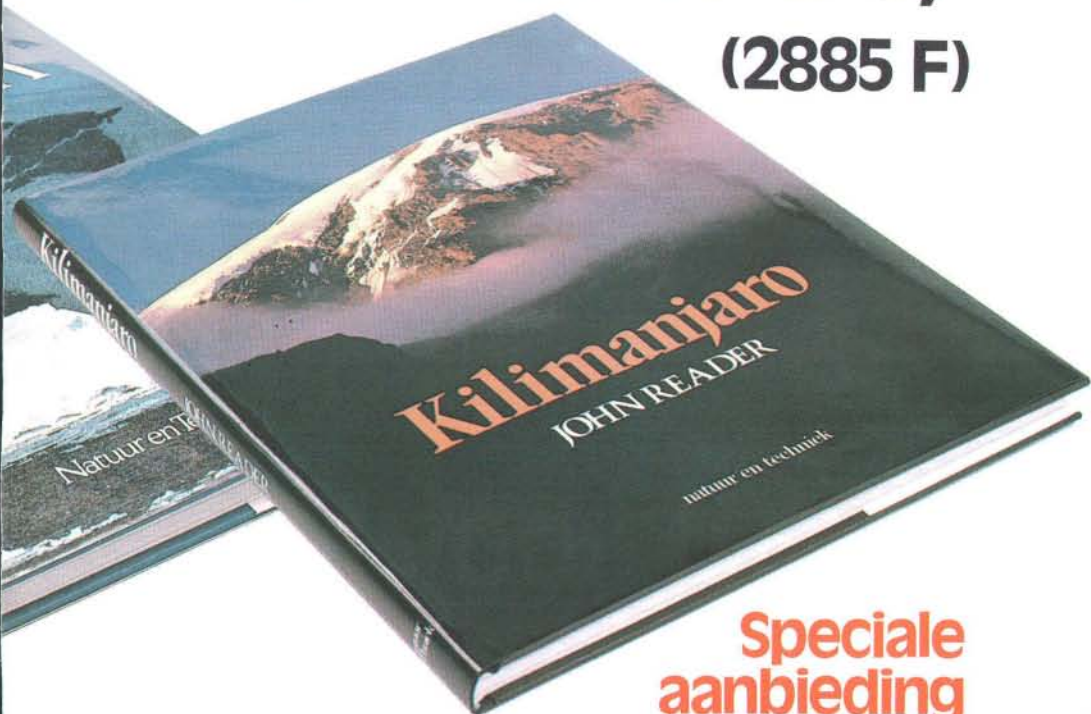
In deze delta leven mensen en dieren al eeuwen lang in een paradijs. Het water staat aan de wieg van dit gebied, maar ook aan het graf. Water is schaars en de steeds verder oprukkende mensheid wil het water zelf hebben voor zijn industrie, zijn huizen. Dit boek is een pleidooi voor het behoud van misschien Afrika's Laatste Paradijs.

Antarctica **Het onbekende continent**

Auteurs: Creina Bond en dr. Roy Siegfried
Foto's: Peter Johnson

Antarctica, het achtste en meest onbekende continent. Een altijd ijzig koud gebied, waar het leven zich toch weet te handhaven. Pelsrobben, pinguïns, allerlei vogels en walvissen voeren niet alleen een strijd tegen de natuur, maar ook een strijd tegen de mens die door zijn aanwezigheid alom al (te) veel schade aan de natuur heeft toegebracht. De mens heeft nog iets gevonden: de vangst van krill, kleine garnaaltjes die het voedsel vormen van alle andere levende wezens, terwijl de waarde van krill als eiwitbron dubieus is. Heeft men wel iets uit de lessen van het verleden geleerd of zal de strijd om Antarctica verliezers van ons allen maken?

samen voor fl. 150,- (2885 F)



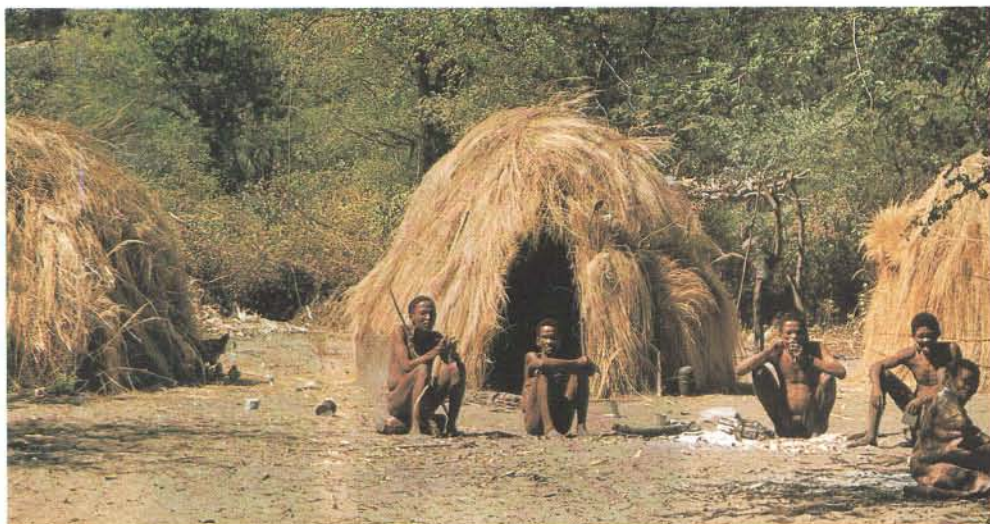
**Speciale
aanbieding**

Kilimanjaro

Auteur en foto's: John Reader
Voorwoord: Z.K.H. Prins Bernhard

De koning der Afrikaanse vulkanen, de Kilimanjaro, is tegelijk het meest en het minst bekend. Men weet dat het de hoogste vulkaan van Afrika is, maar verder...? Gefascineerd maar ook uitgedaagd door deze berg trok de auteur en fotograaf van dit boek naar boven, waarbij hij ondervond dat een koning zich niet zomaar van de troon laat stoten. In een boeiend verslag maak je deze veldtocht mee, waarbij je ontdekt dat de Kilimanjaro eigenlijk de aarde in het klein is: de regenwouden aan de voet, de bossen en woestijnen op de flanken en op de top gletsjers en sneeuwvlakten, die alle hun geheimen nauwelijks prijs willen geven. Dit boek laat zien of dit gelukt is.

Deze aanbieding is in verband met de naderende feestdagen slechts geldig tot en met 31 december 1984 en alleen voor abonnees op Natuur en Techniek. De prijs van f 150,- of 2885 F geldt bovendien alléén als deze drie boeken als één bestelling genomen worden (verzendkosten f 7,- of 135 F). Losse titels blijven dan ook uitsluitend verkrijgbaar tegen de normale abonnee- of boekhandelprijs. Voor een bestelling kunt u gebruik maken van de acceptgirokaart of het overschrijvingsformulier bij dit nummer.



Boven: Er komen in Botswana nog steeds rondzwervende Bosjesmannen voor; de meesten hebben zich nu om waterplaatsen gevestigd.

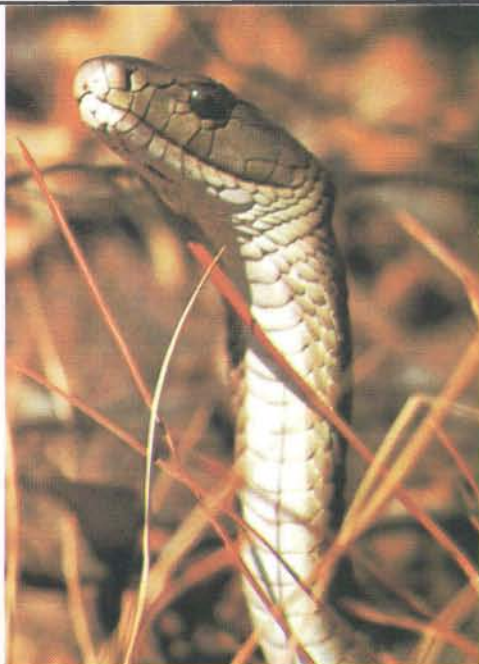
Onder: De aankomst van een maraboe bij de Gcodikwe-lagune. Ongestoord nestelen hier ooievaars en maraboes in moerasvijgebosjes. Ze worden echter zo nu en dan bezocht door eieretende hagedissen.

Okavango

De Okavango is een rivier die in de bergen van Angola ontstaat, echter niet uit sneeuw maar uit vele druppels zomerregen. Zodra de Okavango echter de Kalahari-woestijn binnendringt, neemt zijn watermassa snel af. In de war gebracht door vroegere aardbevingen, stort de rivier zich aarzelend in een vlechtwerk van kanalen, moerassen, meren en lagunen: een 15 000 vierkante kilometer grote delta. Dit gebied is een rusteloze wildernis van steeds veranderde rivieren, eilanden en moerassen, maar ook een gebied van een paradijselijke schoonheid.

De foto's in dit boek tonen de bevolking en de dieren die door deze verwarde uitgestrektheid van groen gras en weelderige waterpartijen worden aangetrokken. In deze wereld kunnen zo'n duizend buffels naar de oneindig-





Boven: Afrika's dodelijkste slang, de zwarte mamba, is elk jaar verantwoordelijk voor een aantal mensenlevens.

Rechts onder: Hoewel door de mens vele kolonies pinguïns werden bedreigd, hebben de dieren het tot nu toe kunnen overleven. Hier gentoo-pinguïns.

heid denderen, kan een vlindertrek dagen duren en kunnen zo'n honderdduizend flamingo's neerstrijken.

Toch zijn er aanwijzingen dat de Okavango bedreigd wordt. In het achter de Okavangodelta gelegen Botswana is water namelijk schaars en kostbaar. De technici van de moderne wereld stellen dan ook pogingen in het werk het natuurlijke patroon te veranderen en het water elders heen te leiden. Zo zijn moerasen drooggelegd, waterlopen gekanaliseerd en is het leven verwoest. Misschien zou dat niet erg zijn wanneer de natuur in de meerderheid was. Maar het is al te vaak gebeurd en op te veel plaatsen.

In tegenstelling tot de meeste Afrikaanse landen is het zuidelijk subcontinent nog gezegend met een rijkdom aan wilde dieren, die in waarde stijgen wanneer de wereld nog meer zal veranderen. Het is echter een open vraag of de mensheid het verdwijnen van dit alles lang zal overleven...

Het boek heeft 205 pagina's met 200 foto's in kleur, waarvan vele paginagroot. De prijs in de boekhandel is f 95,- of 1825 F. De losse verkoopprijs voor abonnees is f 74,50 of 1430 F (excl. verzendkosten).

Antarctica

Niemand kan zich herinneren hoe tijdens het Eoceen, het tijdperk van de zoogdieren, een opening is ontstaan tussen de toen nog naamloze gebieden van Australië en Antarctica, want er waren op dat tijdstip nog geen mensen op aarde. Er waren wel reeds voorlopers van kangoeroes en misschien hadden die wel in de gaten dat er een opening kwam tussen die twee landmassa's, die daardoor samen niet langer één continent vormden. Een nieuwe oceaan werd geboren toen de twee continenten uit elkaar dreven: Australië naar het noorden, Antarctica naar het zuiden, waar het in de koude poolstreek tot stilstand kwam. Daar zou het meer dan vijftig miljoen jaar onontdekt blijven liggen. Dit is het verhaal van mensen die tegen stormen, monsterachtige zeeën en dorre ijsmassa's streden, teneinde dit laatste continent te onderzoeken.

Het is eveneens het verhaal van het verbazingwekkende leven in dit verre zuiden: een vogel die gedurende drie jaar rond de aardbol cirkelt, alvorens op het land neer te strijken; een rob die sterft omdat hij rottende tanden krijgt; een pinguïn die zijn ei in de diepe duisternis van de poolnacht legt...

We nemen ook kennis van het drama van twee 'hausse- en baisse'-industrieën: de pelsrob- en de walvisindustrie. Op dit moment trekt een





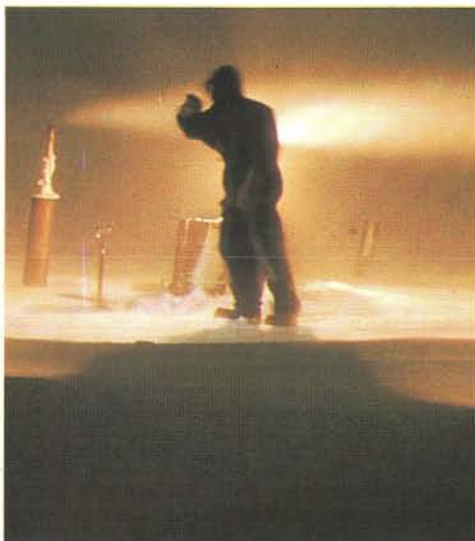
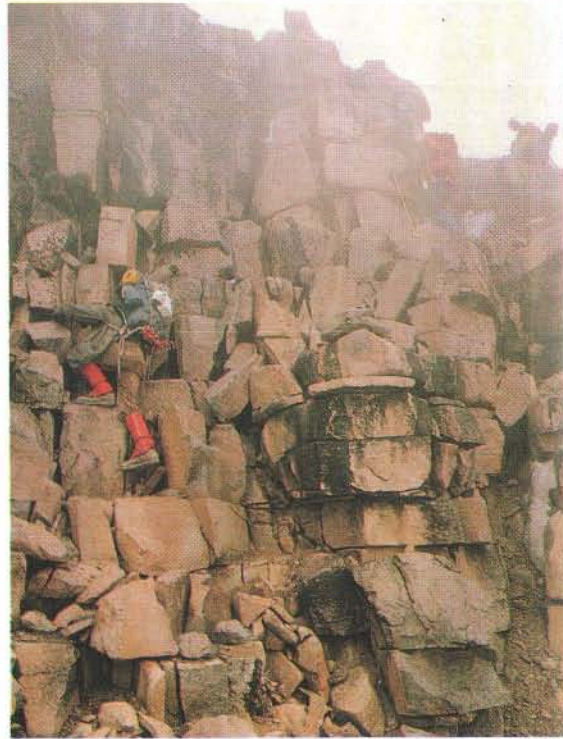
Links: Een eenzame zeeluipaard houdt zich op bij een pinguïnkolonie.

Onder: Een rotswand op de flank van de Kilimanjaro, op 5500 meter.

derde industriële bedrijvigheid de aandacht van de gehele wereld: het vissen naar krill – garnaalachtige diertjes – die echter in het gehele Antarctische gebied aan het begin van de voedselketen staan...

Dit boek met meer dan 100 kleurenfoto's, waarvan vele over twee pagina's, telt 183 pagina's en is in de boekhandel verkrijgbaar voor f 95, – of 1825 F. Als losse titel is de abonneeprijs f 74,50 of 1430 F (excl. verzendkosten).

Onder: Het aanvullen van de watervoorraad in de vorm van sneeuw is tijdens een storm geen pretje.



Kilimanjaro

Het Afrikaanse landschap is groots en uitgestrekt en de Kilimanjaro is er het edelste en glansrijkste middelpunt van. Hoewel mensen vanuit de hele wereld de berg direct herkennen is de hoogste berg van Afrika nooit volledig beschreven en zijn de boeiende vragen die hij opgeworpen heeft nog nooit afdoende beantwoord. Geïntregerd door deze berg met eeuwige sneeuw, midden in het hete Afrika, bracht John Reader verscheidene weken op de berg door om de koning onder de Afrikaanse bergen te portretteren.

De top van de Kilimanjaro, 5950 m hoog, is meestal in nevelen gehuld. Maar ook de berg zelf en de vele vragen eromheen bleven lang een mysterie. Waarom duurde het tot 1848 voordat hij ontdekt werd? En waarom duurde

het dan nog twaalf jaar voordat men in Europa wilde geloven dat hij met sneeuw bedekt was? Waarom gaf hij dertig jaar geleden tekenen van vulkanische activiteit om zich dan weer in zwijgen te hullen?

Hoe blijven de spinnen op de top van de berg in leven? Waarom is het leven er zo overvloedig geschakeerd, met vormen die nergens anders ter wereld voorkomen? Waarom smelt ijs er nu wél weg?

Voor de vele toeristen is de berg een uitdaging voor hun lichaam en hun doorzettingsvermogen en de toeristenindustrie heeft daar op ingespeeld. Maar naast zijn eigen grenzen ontdekt de beklimmer ook de onbegrensdeheid van de natuur.

Dit vlotte en boeiend geschreven boek heeft 160 pagina's, waarvan 64 pagina's kleurenfoto's, die paginagroot en zelfs over twee pagina's gedrukt staan. De prijs in de boekhandel is f 69,50 of 1335 F, terwijl de losse verkoopprijs voor abonnees f 55, – of 1065 F is (excl. verzendkosten).



Rechtsboven: De Kilimanjaro is hoog genoeg om op sommige plaatsen eeuwig ijs te herbergen. Door de zon en de wind ontstaan zeer grillige sneeuw- en ijssculpturen in de krater van de vulkaan.

Onder: De binnenkrater met het asgat dat een diameter van 360 en een diepte van 120 meter heeft.



Betaling van deze drie boeken kan geschieden in twee termijnen. Daarvoor is in dit nummer een acceptgirokaart of overschrijvingsformulier ingesloten, ten bedrage van f 78,50 of 1510 F. Na ontvangst van dit eerste gedeelte worden u de drie boeken direct toegezonden, tegelijk met een girokaart of betaalformulier voor de tweede termijn, die u dan vóór 1 februari 1985 gelieve te voldoen.

Deze aanbieding blijft geldig tot en met 31 december 1984 en alleen voor abonnees op Natuur en Techniek!

Hoe maak je van een gewone camera een direkt-klaar camera voor dia's?



Als u de naam Polaroid hoort, denkt u natuurlijk meteen aan direkt-klaar camera's. Wel, vanaf nu mag u zich daar ook uw eigen kleinbeeld-camera bij voorstellen. Polaroid heeft sinds kort ook direkt-klaar dia's, die zich in niets onderscheiden van de dia's die u nu kent. Niet in kwaliteit en ook niet in formaat.

U plaatst de film in uw eigen camera en maakt uw opnamen. Daarna gaat de film in het handzame en handige ontwikkelapparaat (een donkere kamer is overbodig), en met behulp van het bijbehorende snij-/inraamapparaat hebt u binnen 3 minuten kant en klare dia's. Een kind kan de was doen.

En er zijn 3 verschillende direkt-klaar dia-films, waardoor de toepassingsmogelijkheden des te uitgebreider zijn. Zo is er de Polachrome CS, met een hoog scheidend vermogen en 'n bijzondere kleurgetrouwheid. De Polapan CT, zwart/wit, een panchromatische halftoonfilm met fijne korrel.

En de Polagraph HC, ook een panchromatische zwart/wit film met een hoog contrast, speciaal voor lijn- en kopieerwerk. Hiermee is het Polaroid direkt-klaar diasysteem geschikt voor:

De medische wereld. Direkt-klaar dia's voor diagnose, communicatie, dokumentatie bij vele medische technieken.

Wetenschap en techniek. Direkt-klaar dia's van resultaten vanaf het beeldscherm, wetenschappelijke instrumenten, microscopen en oscilloscopen.

Handel en industrie. Direkt-klaar dia's voor dokumentatie, berichtgeving, bij katalogiseren, presentaties en verzekeringsdoeleinden.

Beroepsfotografen. Direkt-klaar dia's als

voorbeeld voor presentaties, lay-outs en reproducties.

Presentaties. Direkt-klaar dia's van computer-monitors, originele dokumenten, foto's en grafische ontwerpen.

In alle gevallen geldt: informatie blijft net zo lang vertrouwelijk als u wilt, want u vervaardigt het materiaal in huis.

Wilt u de proef op de som nemen, maak dan gebruik van onderstaande coupon.

Wij laten u dan weten bij welke fotohandelaar bij u in de buurt u een proeffilm kunt ophalen en na gebruik kunt laten ontwikkelen. Hij laat u dan in 3 minuten zien dat de kosten voor een eigen ontwikkel- en snij-/inraamapparaat (f279,- en f49,- excl. BTW), zich dubbel en dwars terugverdienen.

 **Polaroid**
Nieuw: Polaroid direkt-klaar dia's.

Vul de coupon in en stuur 'm naar Polaroid, Antwoordnummer 100, 3600 VB Maarssen. U ontvangt dan zo snel mogelijk het dichtstbijzijnde adres waar u 'n gratis proeffilm kunt ophalen en laten ontwikkelen.

Naam: _____

Adres: _____

Postcode/plaats: _____

Telefoon: _____

Beroep: _____

NT

Gratis proeffilm

Biotechnologie, DNA-recombinatie, maatschappelijke gevolgen van micro-elektronika

Met vragen over deze drie onderwerpen (ook voor scriptie of werkstuk) kunt u terecht bij de

Dienst Wetenschapsvoorlichting
N.Z. Voorburgwal 120
1012 SH Amsterdam

tel. (020) 23 23 04, vragen naar de heer Knip.

Vermeldt bij uw vraag s.v.p. deze advertentie.

Dienst Wetenschapsvoorlichting

ALS IEMAND U DIT KAARTJE LAAT ZIEN, KUNT U BETER WAT DUIDELIJKER ZIJN.



Als iemand u laat weten dat hij of zij doof is, zorg dan dat uw gezicht goed zichtbaar is, spreek langzaam en dui-de-lijk en herhaal zonodig dingen of schrijf ze op.

Zo bevordert u het contact. En dat is belangrijk. Want dove mensen horen er bij. **SIRE**

PUBLIKATIE AANGEBODEN DOOR DIT BLAD, IN SAMENWERKING MET DE STICHTING IDEELE RECLAME.